

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ivana Marković**

**Utjecaj polimorfizma rs3812718 gena  
SCN1A na učinkovitost lamotrigina u  
bolesnika s parcijalnom epilepsijom**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2019.**

Disertacija je izrađena na Zavodu za neurologiju Kliničke bolnice Dubrava Zagreb i na Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Silvio Bašić

*Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Silviju Bašiću na izuzetnoj stručnoj pomoći, podršci i dragocjenim savjetima što mi je uvelike pomoglo tijekom izrade ovog rada.*

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Nadi Božini i doc. dr. sc. Davoru Sporišu na susretljivosti i pomoći tijekom izrade ovog rada.*

*I na kraju, zahvaljujem svojim roditeljima Ivanu i Višnji na bezuvjetnoj ljubavi, razumijevanju i podršci u ostvarenju mojih dosadašnjih životnih ciljeva.*

## SADRŽAJ PREMA POGLAVLJIMA

### 1. UVOD I SVRHA RADA

#### 1.1. Epilepsija

1.1.1. Epilepsija kroz povijest .....	1
1.1.2. Incidencija i prevalencija epilepsije .....	5
1.1.3. Definicija i klasifikacija epilepsije .....	6
1.1.4. Žarišni epileptički napadi .....	10

#### 1.2. Liječenje epilepsije

1.2.1. Medikamentozno liječenje epilepsije .....	11
1.2.2. Kirurško liječenje epilepsije .....	14

#### 1.3. Lamotrigin

1.3.1. Indikacijsko područje lamotrigina .....	15
1.3.2. Predpostavljeni mehanizmi djelovanja lamotrigina .....	16
1.3.3. Farmakokinetika lamotrigina .....	17
1.3.4. Nuspojave lamotrigina .....	19
1.3.5. Doziranje lamotrigina .....	20
1.3.6. Zaključak .....	21

#### 1.4. Farmakorezistencija

1.4.1. Definicija farmakorezistencije .....	22
1.4.2. Učestalost i značaj farmakorezistencije .....	23
1.4.3. Obrasci farmakorezistencije .....	24
1.4.4. Ne - genetski uzroci farmakorezistencije .....	25
1.4.5. Genetski uzroci farmakorezistencije .....	27

1.5. O naponu ovisni natrijski kanali	
1.5.1. Stanična membrana i ionski kanali .....	31
1.5.2. Struktura i funkcija o naponu ovisnih natrijskih kanala .....	34
1.5.3. Djelovanje antiepileptika na o naponu ovisne natrijske kanale .....	36
1.6. Geni koji kodiraju o naponu ovisne natrijske kanale	
1.6.1. SCN geni i o naponu ovisni natrijski kanali u živčanom sustavu .....	37
1.6.2. Mutacije SCN gena kao uzrok epilepsije .....	38
1.6.3. Utjecaj polimorfizma IVS 5 - 91 G > A (rs3812718) na alternativno prekrajanje i karakteristike izoformi Nav1.1 kanala.....	40
1.6.4. Polimorfizmi SCN gena i farmakorezistencija epilepsija .....	43
1.7. Farmakogenetika u liječenju epilepsije .....	49
2. HIPOTEZA .....	52
3. CILJEVI RADA .....	52
4. ISPITANICI I METODE	
4.1. Ispitanici .....	53
4.2. Terapijski protokol .....	54
4.3. Genetska analiza .....	55
4.4. Statistička analiza podataka .....	56
5. REZULTATI .....	57
6. RASPRAVA .....	62
7. ZAKLJUČAK .....	65
8. SAŽETAK .....	66
9. SUMMARY .....	67
10. POPIS LITERATURE .....	68
11. ŽIVOTOPIS .....	87

## POPIS OZNAKA I KRATICA

EEG	elektroencefalogram
ILAE	International League Against Epilepsy
IBE	International Bureau for Epilepsy
AEL	antiepileptički lijekovi
PHT	fenitoin
CBZ	karbamazepin
VPA	natrijev valproat
OXC	okskarbazepin
LTG	lamotrigin
ZNS	zonisamid
RFM	rufinamid
LCM	lakoamid
ESL	eslikarbazepin acetat
ETX	etosuksimid
GBP	gabapentin
FBM	felbamat
TPM	topiramat
PGB	pregabalin
RTG	retigabin
GABA	gamma - aminobutyric acid
BD	benzodijazepini
PB	fenobarbital
TGB	tiagabin
VGB	vigabatrin
STP	stiripentol
SV2A	synaptic vesicle glycoprotein 2A
LEV	levetiracetam
BRV	briviracetam
PER	perampanel
FDA	Food and Drug Administration
SJS	Stevens-Johnson sindrom

TEN	Toksična epidermalna nekroliza
SUDEP	sudden unexpected death in epilepsy
ABCB1	ATP binding cassette subfamily B member 1
MDR1	multidrug resistance protein 1
ABCC1	ATP Binding Cassette Subfamily C Member 1
MRP1	multidrug resistance-associated protein 1
CYP	citokrom P450
UGT1	UDP - glukoziltransferaza 1
UGT2	UDP - glukoziltransferaza 2
NAT1	N - acetiltransferaza 1
NAT2	N - acetiltransferaza 2
GST	glutation S - transferaza
SCN	sodium voltage - gated channels
ADFLE	autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy
GEFS+	genetic epilepsy with febrile seizures plus
SNP	single nucleotid polimorphism
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
gRNK	glasnička ribonukleinska kiselina

# 1. UVOD I SVRHA RADA

## 1.1. Epilepsija

### 1.1.1. Epilepsija kroz povijest

Epilepsija prati čovječanstvo od njegovih početaka. Jedan od prvih opisa epileptičkog napada zapisan je dvije tisuće godina prije Krista akadskim jezikom, jednim od jezika korištenih na teritoriju Mezopotamije. U zapisu stoji kako je čovjekov vrat okrenut u lijevo, ruke i noge napete, a oči širom otvorene, iz usta mu izlazi pjena dok je on u potpunosti bez svijesti.<sup>(1)</sup> Prema današnjim spoznajama opisan je generalizirani tonički epileptički napad. Navedeno stanje, za koje se vjerovalo da ga je uzrokovao bog mjeseca, nazvano je antasubbû.<sup>(1)</sup> U starim babilonskim tekstovima o medicini nalaze se opisi unilateralnih i bilateralnih epileptičkih napada, epileptičkog plača, inkontinencije stolice, žarišnih napada sa i bez poremećaja svjesnosti, epileptičke aure kao i opis narkolepsije.<sup>(2)</sup>

U najpoznatijem zakoniku drevne Mezopotamije, Hamurabijevom zakoniku (1790. g. pr. K.), u dijelu o kupoprodaji robova navodi se kako rob može biti vraćen uz povrat novca, ukoliko se bennu (epilepsija) pojavi unutar mjesec dana od kupovine.<sup>(2)</sup> Navedena izjava ujedno označava sami početak stigmatizacije i marginalizacije bolesnika s epilepsijom, koje su nažalost prisutne sve do danas. Interesantan je i podatak o spomenu epilepsije čak i u Svetom pismu. Primjerice, u evanđelju po Marku opisan je generalizirani epileptički napad (Marko 9, 18): „gdje ga god zgrabi, obara ga, a on pjeni, škripi zubima i koči se“.

Stari Grci su epilepsiju smatrali duhovnom bolesti te su je sukladno tome nazivali „sveta bolest“ ili „demonizam“. Za razliku od svojih suvremenika, Hipokrat je smatrao

kako epilepsija nije više božanska ili sveta nego bilo koja druga bolest te sukladno tome iznosi misao kako se uzrok epilepsije nalazi u mozgu.(3) Intrigantna je i njegova misao vezana uz liječenje epilepsije kojom tvrdi kako je epilepsija izlječiva, osim ako se ignorira dugi period vremena kada postaje snažnija od svih lijekova za koju se može reći kako je prvi opis farmakorezistencije epilepsije, entiteta koji danas predstavlja najveći izazov u liječenju bolesnika s epilepsijom.(3)

Unatoč Hipokratovom autoritetu, o epilepsiji kao posljedici poremećaja funkcije mozga počelo se razmišljati tek u 18. i 19. stoljeću. Do tada su bolesnici s epilepsijom živjeli u mračnom dobu u kojem je dijagnoza epilepsije nosila sa sobom stigmatu, marginalizaciju, kaznu i nažalost u nerijetkim slučajevima i nasilnu smrt.

Tek u 19. stoljeću, u vremenu kada se neurologija počela razvijati kao samostalna disciplina, ideja o epilepsiji kao bolesti koja je posljedica poremećene funkcije mozga postaje široko prihvaćena. U Europi su tada postojale četiri velike epileptološke škole – francuska, engleska te manje poznate njemačka i nizozemska škola. Radom brojnih entuzijasta tijekom 19. stoljeća otkrivene su mnoge činjenice vezane uz etiologiju, semiologiju i prirodan tijek epilepsije. U to vrijeme, iako od ranije već poznati, „veći” i „manji” epileptički napadi prvi puta dobivaju službeni naziv „grand mal” i „petit mal” (Jean-Étienne Dominique Esquirol, 1772. - 1840.). U istom periodu Louis François Bravais (1801. - 1843.) prvi puta opisuje „hemiplegičnu epilepsiju”, entitet koji će kasnije biti prozvan postiktalna Toddova pareza. Malo je poznato kako je i naziv „parcijalna epilepsija”, koji je bio široko i kontinuirano upotrebljavan do objave nove klasifikacije epilepsija 2017. godine, upravo osmišljen u 19. stoljeću i to od strane britanskog liječnika James Cowles Pricharda (1786. - 1848.). Ovdje svakako treba spomenuti i John Russell Reynoldsa (1828. - 1896.) čovjeka koji je prvi postavio teoriju o idiopatskoj epilepsiji, odnosno epilepsiji koja nije posljedica niti jedne druge bolesti.



Nadalje, prvi uvodi nazive „epileptiformni” ili „epileptoidni” koji označavaju epileptičke napade s isključenim, u to vrijeme predmnijevanim uzrocima epilepsije (renalni, uterini poremećaji i sl.) te time djelom prihvaća ranije postavljenu teoriju francuskog psihijatra Louis Jean Francois Delasiauvea (1804. - 1893.) o idiopatskoj epilepsiji kao bolesti mozga bez prisutne moždane patologije.(1)

Ocem moderne epileptologije smatra se John Hughlings Jackson (1835. -1911.). Nakon niza kliničkih i anatomskih opservacija, 1867. godine u svom radu opisuje patofiziologiju epilepsije - „bolesno živčano tkivo je nestabilno, pretjerano spremno, ekscitabilno; u njemu se puno brže javlja izbijanje skraćenog vremena trajanja”.(4) 1870. godine u svojem djelu „A study of convulsions” prvi puta definira epileptički napad kao „simptom koji ukazuje kako postoji povremeno, ekscesivno i nesređeno izbijanje živčanog sustava”.(5)

U dvadesetom stoljeću slijedi nagli razvoj epileptologije te time i shvaćanja patofiziologije i semiologije epileptičkih napada. 1929. godina smatra se godinom prekretnicom u epileptologiji budući je to godina u kojoj je njemački psihijatar Hans Berger (1873. – 1941.) razvio elektroencefalogram (EEG), od tada do danas neizostavan dijagnostički alat u evaluaciji bolesnika s epilepsijom.

Tijekom cijelog 20. stoljeća bilježi se brzi i nezaustavljivi porast broja informacija vezanih za nastanak, klinički tijek i liječenje epilepsije. Uz navedeno, 20. stoljeće bilo je najplodonosnije doba u razvoju antiepileptičke terapije. Nakon bromida, koji je do tada bio jedini lijek za liječenje epilepsije, 1912. godine sintezom fenobarbitala (Alfred Hauptmann, 1881.-1948.) započinje nova era medikamentoznog liječenja epilepsije koja podrazumijeva razvoj i sintezu mnogih antiepileptičkih lijekova od kojih se neki, unatoč kontinuiranom razvoju novih lijekova, još i danas koriste kao prva linija u liječenju određenih vrsta epilepsija. Tijekom 20. stoljeća, uz razvoj medikamentozne

terapije, dolazi i do progresivnog razvoja različitih neurokirurških tehnika u kirurgiji epilepsije koje su danas općeprihvaćene i svakodnevno se koriste u tercijarnim centrima specijaliziranim za liječenje epilepsije.

Svakako najvažniji pomak u razumijevanju epilepsije započeo je krajem osamdesetih godina 20. stoljeća kada je prvi puta potvrđena povezanost između kromosoma 20 i sindroma idiopatske epilepsije u obitelji s benignim neonatalnim konvulzijama.<sup>(6)</sup>

Brzim i nezaustavljivim razvojem genetike svakodnevno se suočavamo s nizom novih informacija vezanih uz ulogu genetike u etiologiji i liječenju epilepsija koje iz dana u dan mijenjaju stavove u epileptologiji i obećavaju napredak u liječenju bolesnika koji boluju od epilepsije.

### 1.1.2. Incidencija i prevalencija epilepsije

Prema nedavno objavljenom meta analizi 222 studije (197 o prevalenciji epilepsije, 48 o incidenciji epilepsije) godišnja kumulativna incidencija epilepsije iznosi 67.77 na 100 000 osoba. Trenutna (engl. point prevalence) prevalencija aktivne epilepsije je 6.38 na 1 000 osoba dok je životna prevalencija nešto viša i iznosi 7.60 na 1 000 osoba.(7) Od ranije je poznato kako su i incidencija i prevalencija epilepsije više u zemljama niskog i srednjeg dohotka što je direktna posljedica manje kvalitete medicinske skrbi, a koja podrazumijeva veću stopu prenatalnih i perinatalnih komplikacija, infekcija središnjeg živčanog sustava i češću malnutriciju. U okvirima etiologije i semiologije napada, epilepsije nepoznate etiologije kao i generalizirani toničko - klonički napadi imaju najvišu prevalenciju.(7)

Sukladno navedenom, može se procijeniti kako trenutno u svijetu od epilepsije boluje oko 50 milijuna ljudi što epilepsiju čini najčešćom kroničnom neurološkom bolesti, no srećom ona je i jedina kronična neurološka bolest koja u većeg dijela bolesnika može biti u potpunosti stavljena pod kontrolu.

### 1.1.3. Definicija i klasifikacija epilepsije

Internacionalna Liga protiv epilepsije (International League Against Epilepsy, ILAE) i Internacionalna udruga za epilepsiju (International Bureau for Epilepsy, IBE) su 2005. godine objavile službene definicije epilepsije i epileptičkog napada. U navedenom izvješću epilepsija je definirana kao poremećaj mozga karakteriziran trajnom predispozicijom generiranja epileptičkih napada i neurobiološkim, kognitivnim, psihološkim i socijalnim posljedicama, uz pojavu minimalno dva neprovocirana epileptička napada u periodu duljem od 24 sata.<sup>(8)</sup> Epileptički napad definiran je kao tranzitorna pojava znakova i / ili simptoma koji su posljedica abnormalne pretjerane ili sinhronne neuralne aktivnosti u mozgu.<sup>(8)</sup> Patofiziološki, epilepsija je prisutna već nakon prvog neprovociranog epileptičkog napada. Neprovocirani epileptički napad definira se kao napad čiji uzrok je nepoznat, odnosno kojemu učinjenom obradom uzrok nije utvrđen. Nasuprot tome, provocirani epileptički napad posljedica je akutnog ili kroničnog moždanog oštećenja (npr. trauma, moždani udar). Bolesnici s kroničnim moždanim oštećenjem, nakon doživljenog epileptičkog napada, imaju podjednak rizik za pojavu ponovljenog epileptičkog napada kao i bolesnici nakon doživljena dva neprovocirana epileptička napada u periodu duljem od 24 sata,<sup>(9)</sup> ali prema definiciji iz 2005. godine, nakon prvog napada navedeni bolesnici ne zadovoljavaju kriterije za postavljanje dijagnoze epilepsije.<sup>(8)</sup> Radi prilagodbe definicije epilepsije svakodnevnoj kliničkoj praksi i situacijama u kojima bolesnik ne ispunjava kriterije za postavljanje dijagnoze epilepsije predložene 2005. godine, ali je razvidno da je ona itekako prisutna, 2014. godine ILAE je objavila tzv. praktičnu definiciju epilepsije koja epilepsiju definira kao bolest (a ne više kao poremećaj) karakteriziranu:

- a) pojavom minimalno dva neprovocirana epileptička napada u periodu duljem od 24 sata;
- b) pojavom jednog provociranog (refleksnog) napada uz vjerojatnost za susljedne napade podjednaku riziku (minimalno 60%) za pojavu novih napada nakon dva neprovocirana epileptička napada tijekom 10 godina;
- c) dijagnozom epilepsijskog sindroma.(10)

Dosadašnja dugogodišnja podjela epilepsija prema etiologiji uključivala je idiopatsku, kriptogenu i simptomatsku epilepsiju. Idiopatska epilepsija bila je definirana kao ona čiju pojavnost nije moguće povezati ni sa kakvim očitim uzrokom. Kriptogena epilepsija bila je definirana kao epilepsija za koju se obzirom na kliničku manifestaciju pretpostavlja da je simptomatska, ali se dostupnim dijagnostičkim metodama ne može otkriti jasan uzrok. Za razliku od navedenih, simptomatska epilepsija bila je definirana kao posljedica poznatog, detektibilnog moždanog oštećenja, primjerice tumorske bolesti, malformacije kortikalnog razvoja, ožiljka nakon moždanog udara, traume mozga ili druge specifične etiologije.(11)

Shorvon je 2011. godine predložio novu klasifikaciju epilepsija prema etiologiji.(12) Navedena klasifikacija uključuje ranije opisivanu idiopatsku, simptomatsku i kriptogenu epilepsiju no uvodi i jedan novi termin – provocirana epilepsija, koji označava epilepsiju u kojoj je određeni okolišni čimbenik dominirajući uzrok napada bez evidentnih neuroanatomskih patoloških supstrata. U kategoriju provocirane epilepsije uvrštene su refleksna epilepsija (koja je uglavnom genetskog uzroka) i epilepsija s poznatim predisponirajućim faktorom za napade (npr. vrućica, menstrualni ciklus, ciklus budnost - spavanje, metabolički i endokrini uzroci, lijekovi, alkohol, toksini). Nadalje, u istoj klasifikaciji predlaže podjelu simptomatske epilepsije na dvije skupine – epilepsija s dominantno genetskim ili razvojnim uzrokom (npr. epilepsija u

kromosomskim anomalijama, neurokutanim sindromima, razvojnim poremećajima mozga) te epilepsija sa stečenim uzrokom (traume, tumori, infekcije, neurodegenerativne bolesti, cerebrovaskularne bolesti, perinatalne komplikacije, imunološke bolesti mozga te hipokampalna skleroza).(12) No, pokušaj umjetne podjele etiologije ostaje upitan uzimajući u obzir činjenicu kako je epilepsija multifaktorijalna bolest, činjenicu kako još uvijek nisu poznati svi patomehanizmi koji dovode do nastanka epileptogenog izbijanja te najvažnije osjetljivost i specifičnost dijagnostike primjenjene u obradi bolesnika s epilepsijom.

Zadnja klasifikacija epilepsija iz 2017. godine (ILAE) predstavlja pomak od predhodnih klasifikacija budući omogućava klasifikaciju bolesti na više razina, odnosno pruža mogućnost klasifikacije epilepsije u različitim kliničkim uvjetima.(13) Prva razina u klasificiranju epilepsija, prema navedenoj klasifikaciji, je vrsta epileptičkog napada (žarišnog, generaliziranog, nepoznatog početka) koji se također klasificiraju prema novoj klasifikaciji epileptičkih napada objavljenoj 2017. godine.(14) Druga razina u klasificiranju je vrsta epilepsije koja se dijeli na žarišnu, generaliziranu, kombiniranu žarišnu i generaliziranu te nepoznatu. Treću razinu predstavlja dijagnoza epilepsijskog sindroma (npr. West sindrom, Dravet sindrom i dr.). Još jedna važna promjena u klasifikaciji je i podjela epilepsija prema etiologiji (do sada idiopatske, kriptogene i simptomatske) koje se prema novoj klasifikaciji dijele na strukturalne (epilepsije uzrokovane strukturnim oštećenjem mozga poput tuberozne skleroze, kortikalnih malformacija, hipokampalne skleroze), genetske (epilepsije u kojima jasan genetski poremećaj uzrokuje nastanak bolesti i uključuje kanalopatije, GLUT1 deficijenciju), infektivne (epilepsije koje su posljedica infekcija HIV virusom, cerebralne malarije, tuberkuloze i dr.), metaboličke (epilepsije uzrokovane metaboličkim poremećajem mozga poput deficijencije piridiksina), imunološke (epilepsije s dokazanom

autoimunom bolešću središnjeg živčanog sustava uključujući encefalitise uzrokovane protutijelima na N-metil-D-aspartatne receptore, protutijelima na o naponu ovisne kalijeve kanale i dr.) i epilepsije nepoznatog uzroka. Prema novoj klasifikaciji idiopatske epilepsije predstavljaju samo četiri epileptička sindroma: apsans epilepsija dječje dobi, juvenilna apsans epilepsija, juvenilna mioklona epilepsija i generalizirani toničko - klonički napadi bez drugih vrsta epileptičkih napada.(13)

#### 1.1.4. Žarišni epileptički napadi

Žarišni epileptički napadi (ranije nazivani parcijalni napadi) dijele se ovisno o stanju svjesnosti (engl. awareness) bolesnika tijekom napada. Razlikujemo epileptičke napade bez poremećaja svjesnosti i epileptičke napade s poremećajem svjesnosti.(14)

Žarišni epileptički napadi bez poremećaja svjesnosti označuju napade u kojima je bolesnik prije, tijekom i po završetku napada u potpunosti svjestan sebe i svoje okoline. Žarišni epileptički napadi s poremećajem svjesnosti su napadi tijekom kojih, a vrlo često i kraći period nakon završetka napada, bolesnik nije svjestan niti sebe niti svoje okoline, uz uredno stanje svijesti. Prema ILAE klasifikaciji epileptičkih napada iz 2017. godine žarišni napadi dijele se i ovisno o prezentaciji na samom početku na one s motoričkim i ne - motoričkim početkom.(14) U napade s motoričkim početkom ubrajaju se automatizmi, atonički napadi, klonički napadi, epileptički spazmi, hiperkinetski napadi, miokloni napadi i tonički napadi, dok se u žarišne napade s ne - motoričkim početkom ubrajaju autonomni napadi, kognitivni napadi, emocionalni napadi, senzorni napadi te prestanak aktivnosti.(14) Žarišni epileptički napadi posljedica su žarišnog, lokaliziranog epileptogenog izbijanja. Njihova klinička prezentacija ne ovisi striktno o lokalizaciji epileptogene zone već o lokalizaciji simptomatske zone, odnosno područja mozga čijom eksitacijom dolazi do pojave simptoma, a koja ne mora nužno biti identične lokalizacije kao i epileptogena zona. Ukoliko se epileptogeno izbijanje proširi bilateralno, preko obje hemisfere, tada govorimo o žarišnom napadu s prelaskom u bilateralni toničko - klonički napad (ranije označavano terminom „sekundarna generalizacija“).



## 1.2. Liječenje epilepsije

### 1.2.1. Medikamentozno liječenje epilepsije

Liječenje epilepsije temelji se na primjeni antiepileptičkih lijekova (AEL), a osnovni cilj je postizanje ravnoteže između ekscitacije i inhibicije unutar moždanog parenhima, odnosno inhibicija moždane hiperekscitabilnosti koja je osnova epileptogenog izbijanja. Danas na tržištu postoji dvadesetak registriranih antiepileptičkih lijekova koji se međusobno razlikuju prema svojim mehanizmima djelovanja. Navedeni mehanizmi uključuju djelovanje na o naponu ovisne natrijske, kalcijske i kalijeve kanale – fenitoin (PHT), karbamazepin (CBZ), natrijev valproat (VPA), okskarbazepin (OXC), lamotrigin (LTG), zonisamid (ZNS), rufinamid (RFM), lakozamid (LCM), eslikarbazepin acetat (ESL), etosuksimid (ETX), gabapentin (GBP), felbamat (FBM), topiramat (TPM), pregabalin (PGB), retigabin (RTG); pojačavanje inhibitornog djelovanja gamaaminomaslačne kiseline (GABA) - benzodijazepini (BD), fenobarbital (PB), VPA, FBM, GBP, tiagabin (TGB), vigabatrin (VGB), TPM, stiripentol (STP); vezanje na sinaptički vezikularni protein SV2A – levetiracetam (LEV), briviracetam (BRV); vezanje na glutamatne receptore – perampanel (PER).

Zlatni standard u liječenju epilepsija je monoterapija. Pravilnim izborom na prvi antiepileptik dobro će odgovoriti oko 60 % bolesnika.<sup>(15)</sup> U bolesnika kod kojih prvim antiepileptikom nije postignuta adekvatna kontrola bolesti potrebno je razmotriti uvođenje drugog antiepileptika. Postoje dvije moguće opcije u promjeni inicijalne antiepileptičke terapije – zamjena drugim antiepileptikom ili uvođenje dodatnog antiepileptika (tzv. add on). Ideja o zamjeni kao boljoj terapijskoj opciji zbog relativno manje toksičnosti jednog lijeka u usporedbi s politerapijom opovrgnuta je dokazima kako bolesnici koji uzimaju više od jednog antiepileptika nisu u opasnosti od veće

toksičnosti od onih koji uzimaju samo jedan lijek sve dok su doze lijekova ekvivalentne.(16) Iako mnoge bolesti zahtijevaju pristup liječenju prilagođen svakom pojedinom bolesniku, u bolesnika s epilepsijom to je daleko više naglašeno. Kod izbora idealnog režima terapije u obzir treba uzeti karakteristike pojedinca (farmakokinetičke i farmakodinamske interakcije organizma s određenim antiepileptikom, prisutne komorbiditete te svakako konkomitantnu terapiju), karakteristike prisutnog epileptičkog sindroma te karakteristike samog antiepileptika kojeg se planira uvesti u terapiju.

Na temelju dosadašnjih spoznaja o učinkovitosti antiepileptičke terapije i postotku bolesnika koji će dobro reagirati na prvi antiepileptik preporuča se shema kojom se inicijalno u terapiju uvodi jedan antiepileptik s najvećim potencijalom za redukciju broja napada i najnižom toksičnošću. Ukoliko se on pokaže neučinkovitim ili pak uzrokuje pojavu nuspojava pri nižim ili srednjim dozama poželjno je zamijeniti ga drugim antiepileptikom. Ukoliko se i drugi antiepileptik pokaže neučinkovitim potrebno je razmotriti uvođenje dodatnog antiepileptika odnosno započeti s politerapijom.(16)

Kod izbora lijeka koji će se dodati u terapiju iznimno je važno odabrati lijek različitog mehanizma djelovanja radi potenciranja antiepileptogenog djelovanja i izbjegavanja potencijalnog antagonizma među lijekovima.(17, 18)

Nadalje, kod odluke o politerapiji potrebno je razmišljati i o mogućem utjecaju jednog antiepileptika na farmakokinetiku drugog od kojih je najvažnija indukcija ili inhibicija citokroma P450 koja posljedično može uzrokovati smanjenje ili povećanje koncentracije antiepileptika u serumu te time smanjenu učinkovitost ili pak pojavu nuspojava.(19, 20)

Tijekom dvadesetog stoljeća opservirano je kako postotak bolesnika koji boluju od epilepsije, a koje je moguće uvesti u remisiju iznosi između 60 % i 80 % što ukazuje

na činjenicu kako epilepsija kao entitet ima dobru prognozu u većine bolesnika. Ostatak bolesnika proglašava se farmakorezistentnima. Farmakorezistencija je definirana kao neuspjeh kontrole bolesti s dva prikladno odabrana i upotrebljena antiepileptika (kao monoterapija ili u kombinaciji).(21)

### 1.2.2. Kirurško liječenje epilepsije

U dijela farmakorezistentnih bolesnika remisiju bolesti je moguće postići upotrebom klasične kirurgije epilepsije ili pak minimalno invazivnih kirurških tehnika poput radiofrekventne termokoagulacije.(22) Odluci o kirurškom liječenju epilepsije predhodi detaljna preoperativna evaluacija bolesnika. Potencijalni kandidati za neurokirurški zahvat moraju proći detaljnu preoperativnu obradu temeljem koje se donosi zaključak je li bolesnik kandidat za kirurško liječenje epilepsije kao i koja je vrsta zahvata za bolesnika najadekvatnija. Prije definitivne odluke o kirurškom liječenju, uz rezultate preoperativne obrade, u obzir treba uzeti i kliničko stanje bolesnika, izgleda za pozitivan ishod kirurškog liječenja i poboljšanje kvalitete života u komparaciji s rizicima operativnog zahvata te svakako stav i motiviranost bolesnika za potencijalni neurokirurški zahvat.(23) Sve navedeno rezultira činjenicom da samo dio bolesnika koji su rezistentni na antiepileptičku terapiju mogu biti kandidati za kirurško liječenje epilepsije. Neurokirurške metode koje se koriste u liječenju epilepsije su lezijektomija, lobektomija, multilobarna resekcija, hemisferektomija, korpus kalozotomija, mutiple subpijalne transekcije, ugradnja stimulatora živca vagusa, duboka mozgovna stimulacija te u novije vrijeme i minimalno invazivne metode poput radiofrekventne teletermokoagulacije.(22, 23)

### 1.3. Lamotrigin

#### 1.3.1. Indikacijsko područje lamotrigina

Kao lijek za liječenje epilepsije lamotrigin se u kliničkoj praksi koristi od 1994. godine kada je američka Agencija za hranu i lijekove (US Food and Drug Administration, FDA) odobrila prvu formulaciju lamotrigina – Lamictal (Glaxo Smith Kline). Prema navedenom dokumentu lamotrigin je indiciran kao dodatna terapija u bolesnika starijih od 2 godine koji boluju od epilepsije sa žarišnim napadima, generaliziranim toničko – kloničkim napadima i Lennox-Gastaut sindromom. Kao monoterapija indiciran je u bolesnika sa žarišnim epileptičkim napadima starijih od 16 godina. Izuzev epilepsije lamotrigin ima indikacijsko područje u bipolarnom poremećaju, i to u fazi održavanja s ciljem odgađanja epizoda promjene raspoloženja (depresija, manija, hipomanija, miješane epizode), u bolesnika starijih od 18 godina liječenih standardnom terapijom za poremećaje raspoloženja.(24)

### 1.3.2. Predpostavljeni mehanizmi djelovanja lamotrigina

Glavni mehanizam djelovanja lamotrigina je blokiranje o naponu ovisnih natrijskih kanala. Veći afinitet pokazuje za kanale koji repetitivno izbijaju visokim frekvencijama, odnosno bolje se veže za kanale koji su aktivnom stanju - što je viša frekvencija izbijanja i više aktivnih kanala to je i jače vezanje lamotrigina, a sve zajedno rezultira onemogućavanjem propagacije akcijskog potencijala.(25, 26) Uz navedeni mehanizam djelovanja, postoje podaci kako lamotrigin djeluje i na otpuštanje neurotransmitera, posebice gamaminomaslačne kiseline i glutamata.(27, 28, 29) Hassel i suradnici su na životinjskim modelima pokazali kako kronična upotreba lamotrigina povisuje GABA aktivnost u hipokampusu uz povišenje cerebralnog taurina (koji ima neuromodulatorne karakteristike) što može doprinijeti antikonvulzivnom efektu lamotrigina.(30) Nadalje, u laboratorijskim uvjetima pokazano je kako lamotrigin suprimira GABA<sub>A</sub> receptorima posredovanu sinaptičku transmisiju direktnim i / ili indirektnim učinkom na presinaptički utok kalcijevih iona.(31) Navedena modulacija inhibitorne sinaptičke transmisije jedan je od predmijevanih mehanizama psihotropnih efekata lamotrigina. Izuzev navedenog, pretpostavka je kako lamotrigin u terapijskim dozama ima sposobnost modulacije kalcijevih struja uključenih u procese otpuštanja aminokiselina.(32)

### 1.3.3. Farmakokinetika lamotrigina

Lamotrigin se nakon oralne primjene gotovo u potpunosti apsorbira. Njegova bioraspoloživost je blizu 100 %.(33) Nakon oralne primjene maksimalna koncentracija ( $C_{max}$ ) se u zdravih pojedinaca postiže unutar 1 - 3 sata i navedeno vrijeme ne ovisi značajno o visini doze lamotrigina.(34) Na bioraspoloživost lamotrigina znatno utječe paralelno uzimanje hrane.(35) Lamotrigin se podjednako distribuira u sva tkiva uključujući moždani parenhim. Distribucija u moždanih parenhim je rezultat njegove lipofilnosti koja omogućava nesmetan prolazak kroz krvno - mozgovnu barijeru.(36) Metabolizam lamotrigina temelji se na glukuronidaciji, enzimskom procesu u kojem sudjeluju uridin 5' - difosfat - glukuronozil transferaze. U prosjeku 70 % jedinične oralne doze lamotrigina izlučuje se urinom od čega je 75 - 90 % u obliku konjugata glukuronida (2 - Nglukuronid) dok se ostali dio izlučuje nepromijenjen.(37, 38) Poluvrijeme eliminacije ( $T_{1/2}$ ) lamotrigina u rasponu je od 24.1 – 31.2 sata.(39) Budući je primarni način eliminacije lamotrigina enzimatski proces podložan promjenama uslijed inhibicije i indukcije enzima koji sudjeluju u njemu, farmakokinetika lamotrigina ovisi o konkomitantnoj terapiji, odnosno uzimanju lijekova koji utječu na aktivnost enzima koji sudjeluju u njegovom metabolizmu. Poznato je kako karbamazepin, fenitoin, fenobarbital i okskarbazepin indukcijom enzima smanjuju koncentraciju lamotrigina u serumu, dok istovremena upotreba natrijeva valproata, pri istoj dozi lamotrigina, uzrokuje povišenje koncentracije lamotrigina u serumu uslijed inhibicije enzima koji sudjeluju u njegovom metabolizmu.(40) Navedene interakcije imaju kliničku važnost budući nagle varijacije serumskih koncentracija lamotrigina mogu uzrokovati ili smanjenu učinkovitost (koja se prezentira pojavom epileptičkih napada) ili pak povećanu toksičnost koja se prezentira pojavom nuspojava, a što je posebno

izraženo prilikom neoprezne istovremene upotrebe natrijevog valproata i lamotrigina, kombinacije za koju je opažena veća učestalost pojave nuspojava na antiepileptičku terapiju.(41)



#### 1.3.4. Nuspojave lamotrigina

U studiji u kojoj je bilo uključeno 334 bolesnika na monoterapiji lamotriginom najčešća opservirana nuspojava bila je vrtoglavica (50 %) nakon koje su prema učestalosti slijedile dvoslike (33 %), ataksija (24 %), zamućeni vid (23 %) i somnolencija (14 %).(42) U istoj studiji nije opservirana statistički značajna razlika u pojavi kožnog osipa, glavobolje, mučnine i poremećaja koordinacije u usporedbi s placebom. Od svih navedenih nuspojava, kožni osip se najčešće dovodi u vezu sa lamotriginom, no isti je opisan i kod primjene drugih antiepileptika.(43, 44, 45) Najozbiljnija i po život opasna nuspojava lamotrigina jest Stevens - Johnson sindrom (SJS) koji nastaje kao posljedica hipersenzitivnosti posredovane imunim kompleksima, a klinički se prezentira kožnim eritemom uz pojavu kožnih bula i hemoragičnih erozija mukoznih membrana (stomatitis, balanitis, kolpitis, konjuktivitis, blefaritis).(46) Pojava kožnog osipa javlja se u prosjeku u 3 – 10 % bolesnika koji uzimaju lamotrigin, dok je pojavnost SJS izrazito rijetka.(47) Procijenjena incidencija SJS u bolesnika koji uzimaju lamotrigin, prema analizi 122 studije s ukupno 18,698 bolesnika, iznosi 0.04 %.(48)

### 1.3.5. Doziranje lamotrigina

Prema uputama o doziranju, početna doza lamotrigina u monoterapiji epilepsije u odraslih i djece iznad 12 godina je 25 mg jednom dnevno kroz 14 dana nakon čega se doza može povisiti na 50 mg dnevno (podjeljeno u dvije doze) uz nastavak povišavanja doze za 25 mg tjedno / dva tjedna do doze održavanja. Uobičajena doza održavanja je 100 - 200 mg dnevno u 1 - 2 doze, iako ovisno o bolesniku, prirodi bolesti i konkomitantnoj terapiji doza može biti povišena do 500 mg dnevno. Prilikom istovremene upotrebe s natrijevim valproatom potrebna je sporija titracija doze radi prevencije pojave nuspojava.(24, 49)

### 1.3.6. Zaključak

Lamotrigin je dobro podnošljiv lijek, povoljnog farmakokinetičkog profila koji uključuje dobru apsorpciju, linearnu kinetiku, dugo poluvrijeme eliminacije koje omogućava čak i doziranje jednom dnevno. Nadalje, lamotrigin ne pripada skupini antiepileptika koji utječu na aktivnosti jetrenih enzima te je stoga idealan lijek u bolesnika koji u terapiji imaju lijekove čiji glavni put metabolizma je putem citokroma P450 (npr. marivarin). Nužan je oprez ukoliko se daje uz lijekove koji induciraju ili inhibiraju jetrene enzime budući navedeni lijekovi mogu značajno utjecati na metabolizam, a time i serumske koncentracije lamotrigina.(50) Jedini je antiepileptik koji se smatra sigurnim lijekom u trudnoći (na temelju učestalosti fetalnih malformacija, ali i pojave kognitivnog deficita u djece) te je time i lijek izbora u mladih žena s epilepsijom koje planiraju trudnoću.(51) Nuspojave lamotrigina, ukoliko se jave, uglavnom su blagog i prolaznog karaktera. Gledajući učinkovitost, prema objavljenim studijama lamotrigin ima podjednaki učinak u liječenju žarišnih i generaliziranih epilepsija kao karbamazepin, ali je u komparaciji s karbamazepinom bolje podnošljiv, odnosno karakterizira ga manja učestalost nuspojava.(52, 53, 54) Sukladno navedenom, prilikom odabira lamotrigina u liječenju epilepsija primarno se treba voditi njegovom učinkovitošću i daleko većom koristi od potencijalne štete za bolesnika.

## 1.4. Farmakorezistencija

### 1.4.1. Definicija farmakorezistencije

Prema Internacionalnoj ligi protiv epilepsije (ILAE) farmakorezistentna epilepsija se definira u bolesnika u kojih se pokaže neuspjeh kontrole bolesti, odnosno ne postigne potpuna kontrola epileptičkih napada s dva prikladno odabrana i primjenjena antiepileptika (kao monoterapija ili u kombinaciji).(21)

Tijekom istraživanja učinkovitosti antiepileptičkih lijekova u definiranju farmakorezistencije često su korišteni različiti kriteriji. U to se ubrajaju različiti broj antiepileptika, različita duljina bolesti, frekvencija napada te različite duljine perioda bez napada.(55) Posljedica toga je nekonzistentnost rezultata među istraživanjima farmakorezistencije epilepsija. U kliničkoj praksi anamnestički podatak o nepostojanju perioda bez napada u trajanju od dvanaest mjeseci unatoč uzimanju dva ili tri adekvatna i dobro podnošljiva antiepileptika u adekvatnim dozama, iskusnom bi kliničaru trebao ukazati na farmakorezistenciju te bi takvog bolesnika svakako trebalo usmjeriti na evaluaciju u specijalizirane centre za liječenje epilepsija.(56, 57)

#### 1.4.2. Učestalost i značaj farmakorezistencije

Unatoč kontinuiranom razvoju novih antiepileptika s različitim mehanizmima djelovanja proporcija bolesnika rezistentnih na antiepileptičke lijekove i dalje ostaje konstantna, a obuhvaća u prosjeku jednu trećinu ukupnog broja bolesnika koji boluju od epilepsije.(58) Rizični čimbenici koji povećavaju mogućnost za razvoj farmakorezistentne epilepsije su pojava napada u ranoj dobi, dugogodišnja loša kontrola bolesti, pojavnost više od jednog oblika napada u tijeku bolesti, simptomatska epilepsija, prisutan strukturni poremećaji mozga, mentalno oštećenje i epileptički status u anamnezi.(23, 59) Uz to što bolesnici s farmakorezistentnom epilepsijom imaju smanjenu kvalitetu života, radi učestalih napada koji negativno utječu na psihički i socijalni život bolesnika, manje je poznato kako bolesnici s farmakorezistentnom epilepsijom imaju deset puta veći rizik od iznenadne neočekivane smrti u epilepsiji (SUDEP; engl. sudden unexpected death in epilepsy).(60) Iznenadna neočekivana smrt u epilepsiji je najčešći oblik smrti u bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom, a rizik je usko povezan s razinom uspješnosti kontrole napada. Karakteristično je kako se patološkim pregledom (post mortem) u takvih pojedinaca ne uspijeva identificirati toksični ili anatomske uzrok smrti, a uzročni mehanizmi same smrti uglavnom ostaju nepoznati.(60) Rezistencija na antiepileptike predstavlja i materijalni problem svakom zdravstvenom sustavu zbog velikih troškova liječenja. Studija provedena devedesetih godina u Velikoj Britaniji pokazala je kako je liječenje bolesnika koji boluju od farmakorezistentne epilepsije osam puta skuplje od liječenja bolesnika koji dobro reagiraju na antiepileptičku terapiju.(61)

### 1.4.3. Obrasci farmakorezistencije

Schmidt i Löscher su u svome radu opisali četiri različita obrasca rezistencije na antiepileptike:

- de novo refrakternost je refrakternost u kojoj od samog početka bolesti, odnosno postavljanja dijagnoze, bolesnik pokazuje rezistentnost na terapiju
- progresivna refrakternost je refrakternost u kojoj se u početku bolesti i liječenja opservira adekvatna kontrola napada no vremenom, unatoč adekvatnoj terapiji, dolazi do ponovnog javljanja napada i pojave refrakternosti na antiepileptičku terapiju
- „wax and wane” refrakternost označava obrazac farmakorezistencije u bolesnika u kojem se izmjenjuju periodi adekvatnog odgovora na terapiju s periodima refrakternosti na antiepileptičku terapiju
- primarna refrakternost je refrakternost koja se opservira na samom početku bolesti, ali s vremenom regredira te bolesnik adekvatno odgovara na ordiniranu terapiju.(62)

Većina bolesnika će se prezentirati neadekvatnim odgovorom na antiepileptičku terapiju od samog početka bolesti, bez promjene obrasca, što podupire pretpostavku kako je većina refrakternih epilepsija refrakтерна de novo.(63) Navedena činjenica ukazala je na potrebu pronalaska mogućeg uzroka rezistencije na antiepileptike na molekularnoj, odnosno genetskog razini.

#### 1.4.4. Ne - genetski uzroci farmakorezistencije

Ne - genetski uzroci rezistencije na antiepileptičku terapiju mogu biti razni. Jedan od češćih uzroka je pogrešno postavljena dijagnoza epilepsije u bolesnika koji od epilepsije ne boluju, već su u njih prisutna stanja koja klinički nalikuju epileptičkim napadima. To su prvenstveno bolesnici sa psihogenim ne-epileptičkim napadima, stanjem koje se zbog svoje kliničke sličnosti u neiskusnog medicinskog osoblja često zamijeni s epileptičkim napadima. Takvi bolesnici, unatoč propisanoj terapiji i dobroj suradljivosti, od samog početka liječenja pokazuju rezistentnost na antiepileptike. Interesantan je podatak kako se u 25 – 30 % bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom upućenih u tercijarne centre za liječenje epilepsije, nakon obrade koja podrazumijeva prolongirano video-EEG snimanje, postavi dijagnoza psihogenih ne - epileptičkih napada.(64, 65) Krivo definirana vrsta epileptičkih napada, na temelju anamnestičkih podataka, i prema njoj ordinirana terapija također može biti uzrok „lažne” rezistencije na antiepileptičku terapiju. Primjer za to su frontalni apsansi koji klinički mogu nalikovati apsans napadima, no iskusni kliničar jasno može razlikovati ove dvije vrste napada. Primarno po duljini samog napada (frontalni apsansi traje dulje od apsans napada) kao i na temelju interiktalnog i iktalnog elektroencefalografskog zapisa. Proglašavanje frontalnog apsansa apsans napadom i ordiniranjem antiepileptika koji se koriste u liječenju apsans napada (etosuksimid) rezultirati će apsans napadima rezistentnim na antiepileptičku terapiju, dok se u stvarnosti radi o žarišnim napadima s poremećajem svjesnosti koji bi mogli biti dobro kontrolirani antiepileptikom koji ima bolju učinkovitost za žarišne napade (npr. karbamazepin). Još jedan od mogućih uzroka je i neadekvatno odabrana kombinacija lijekova u politerapiji. Primjera radi, istovremena primjena antiepileptika s istim mehanizmom djelovanja

može rezultirati manjom učinkovitošću u usporedbi s kombinacijom antiepileptika koji imaju različite mehanizme djelovanja. Za navedeno postoje dokazi o manjoj učinkovitosti određene kombinacije antiepileptika (npr. kombinacija fenitoina i karbamazepina koji imaju isti dominantni mehanizam djelovanja – djelovanje na o naponu ovisne natrijske kanale), ili pak nemogućnost dokaza sinergističkog učinka određenih kombinacija antiepileptika - lamotrigina s karbamazepinom ili fenitoinom (sva tri s istim dominantnim mehanizmom djelovanja).(66, 67, 68) Nadalje, mogući uzrok farmakorezistencije je i istovremena promjena lijekova za liječenje drugih bolesti i stanja koji utječu na farmakokinetiku antiepileptika i time uzrokuju njihovu smanjenu učinkovitost. Primjera radi, u žena koje boluju od epilepsije, a koje su na terapiji lamotriginom, upotreba oralnih kontraceptiva za koje je poznato kako induciraju metabolizam lamotrigina može uzrokovati značajno smanjenje serumske koncentracije lamotrigina u svega nekoliko dana što može imati kliničke reperkusije u vidu pojave epileptičkih napada, odnosno pojave rezistencije na lamotrigin u bolesnika s predhodno dobro kontroliranom epilepsijom.(69) Hipodoziranje antiepileptika je još jedan važan i ne tako rijedak uzrok rezistencije na antiepileptičku terapiju. Naime, radi straha od mogućih nuspojava nerijetko se bolesnicima propisuju male doze antiepileptika kojima nije moguće uspostaviti adekvatnu kontrolu bolesti. Ovdje svakako treba spomenuti i suradljivost bolesnika budući u određenog broja bolesnika farmakorezistencija može biti posljedica nepridržavanja uputa o liječenju kao i neredovitog uzimanja terapije.

Ukoliko se detaljnom anamnezom i heteroanamnezom, redovitim praćenjem bolesnika, evaluacijom njegovih komorbiditeta i konkomitantne terapije te dijagnostičkim postupcima, među kojima video-EEG zauzima ključnu ulogu, isključe



gore navedeni potencijalni uzroci farmakoezistencije može se posumnjati kako je mogući uzrok farmakorezistencije posljedica genetskih značajki bolesnika.

#### 1.4.5. Genetski uzroci farmakorezistencije

Razvojem ideje o farmakorezistenciji kao posljedici poremećaja na molekularnoj odnosno genetskoj razini uzroci su se počeli tražiti u alteracijama gena koji kodiraju proteine koji sudjeluju u farmakokinetici i farmakodinamici antiepileptičkih lijekova. Inicijalna istraživanja su bila usmjerena na gene koji kodiraju proteine s funkcijom transmembranskog nosača na krvno - mozgovnoj barijeri. Među tom skupinom gena najistraživaniji su ABCB1 (MDR1) te ABCC1 (MRP1) gen. MDR1 protein (engl. multidrug resistance protein 1), poznat i pod nazivom P-glikoprotein, je transmembranski protein nosač koji aktivnim transportom prenosi velike hidrofobne molekule različitih struktura. Osim što se nalazi na krvno - mozgovnoj barijeri moguće ga je naći i u drugim dijelovima organizma poput tankog crijeva, posteljice, jetre i bubrega, gdje također obavlja funkciju transportnog proteina. U endotelnim stanicama moždanih kapilara MDR1 protein je lokaliziran na luminalnoj strani. Njegova osnovna funkcija je izbacivanje toksičkih molekula ili metabolita u ekstracelularni prostor putem ATP ovisnog aktivnog transporta.(70) Budući su neki od antiepileptika supstrati za navedeni protein, alteracija funkcije MDR1 proteina može imati ulogu u razvoju rezistencije na antiepileptike. To su potvrdile i studije koje su pokazale kako alteracije MDR1 proteina utječu na distribuciju antiepileptika u središnjem živčanom sustavu.(71 - 75) Tischler i suradnici su u svom radu opservirali kako u bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom, koji su podvrgnuti kirurškom liječenju, u reseciranom moždanom tkivu postoji povećana ekspresija MDR1 proteina.(76) Ameyaw i suradnici su opservirali kako ekspresija i funkcija samog proteina ovisi o C3435T polimorfizmu ABCB1 gena kao i rasnoj pripadnosti pojedinca. U svom istraživanju opservirali su

povećanu ekspresiju i funkciju MDR1 proteina u nosioca CC genotipa, dok su u nosioca TT genotipa opservirali smanjenje ekspresije i funkcije istoga.(77) Bašić i suradnici su prvi puta na humanom modelu, odnosno u bolesnika s generaliziranom epilepsijom, dokazali utjecaj C3435T polimorfizma ABCB1 gena na koncentraciju fenobarbitona u likvoru. Svojim istraživanjem pokazali su kako u CC homozigota, unatoč jednakim serumskim koncentracijama fenobarbitona kao u CT i TT homozigota, postoji snižena koncentracija fenobarbitona u likvoru i time podkrijepili tvrdnje kako C3435T polimorfizam ABCB1 gena utječe na funkciju MDR1 proteina te uzrokuje interindividualne razlike u koncentraciji lijekova u središnjem živčanom sustavu.(75) Meta analiza koja je obuhvatila 22 studije o povezanosti C3435T polimorfizma ABCB1 gena i farmakorezistencije nije rezultirala dokazom o povezanosti navedenog polimorfizma i rezistencije na antiepileptike među pripadnicima različitih rasa.(78) Ovakav rezultat može biti posljedica velike varijabilnosti uključnih i isključnih kriterija u analiziranim studijama te, možda i najvažnije, neuniformne definicije farmakorezistencije.

Poput MDR1 proteina, MRP1 (engl. multidrug resistance-associated protein 1) protein je još jedan protein prisutan u središnjem živčanom sustavu s funkcijom transmembranskog nosača koji se u fiziološkim uvjetima nalazi u epitelnim stanicama koroidnog plexusa te sudjeluje u održavanju homeostaze cerebrospinalnog likvora. Ima različite supstrate od MDR1 proteina – pretpostavlja se kako in vivo prenosi organske anione, molekule konjugirane glutationom, leukotriene, epoksidi.(79) Promjene funkcije ovog proteina mogu uzrokovati promjene u sastavu cerebrospinalnog likvora, uključujući i promjene koncentracije lijekova u cerebrospinalnom likvoru, što može rezultirati smanjenom učinkovitošću lijeka uslijed njegove smanjene koncentracije u središnjem živčanom sustavu. Sisodiya i suradnici

pokazali su kako u bolesnika s hipokampalnom sklerozom, fokalnom kortikalnom displazijom i disembrioplastičnim neuroepitelnim tumorima postoji ekspresija MRP1 proteina u navedenim tkivima, što su autori predpostavili kao moguć uzrok rezistencije na antiepileptičku terapiju.(80)

Većina transportnih proteina može transportirati više od jednog antiepileptika, posljedično tome polimorfizam samo jednog gena može utjecati na kinetiku nekoliko različitih antiepileptika, što se podudara s činjenicom kako su bolesnici refrakterni na terapiju uglavnom refrakterni na više različitih antiepileptika, neovisno o njihovom mehanizmu djelovanja.(81) Navedena teorija o farmakorezistenciji kao posljedici izmjenjene funkcije proteina koji djeluju kao transmembranski nosači otvara mogućnosti za razvoj novih antiepileptika koji ne bi bili supstrati za navedene proteine, kao i onih koji bi mogli direktno utjecati na funkciju samih proteina.

Unatoč pretpostavci kako promjena ekspresije i funkcije transportnih proteina utječe na pojavu farmakorezistencije i unatoč dokazima o mogućoj povezanosti ekspresije transportnih proteina i rezistencije na antiepileptike, i dalje postoje određene činjenice koje dovode ovu teoriju u pitanje. Poznato je kako prilikom epileptičkog napada dolazi do povećane propusnosti krvno - mozgovne barijere što omogućava povećani ulazak antiepileptika u moždani parenhim, a što se u bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom i učestalim napadima češće događa. Nadalje, povećana funkcija transportnih proteina, koja dovodi do smanjene koncentracije antiepileptika u središnjem živčanom sustavu, ne može objasniti pojavnost nuspojava središnjeg živčanog sustava na antiepileptike u bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom budući je koncentracija antiepileptika kod povećane funkcije transportnih proteina u središnjem živčanom sustavu snižena. Nadalje, prisutnost transportnih proteina u tkivima koja također sudjeluju u farmakokinetici antiepileptičkih lijekova (hepatociti koji

su dio bilijarnog sustava, mukozne stanice crijeva, stanice proksimalnih renalnih tubula) nije zanemariva u općoj kinetici antiepileptičkih lijekova.(82) Postoji mogućnost da do povećane ekspresije transportnih proteina dolazi samo u epileptičkom žarištu što bi jednim dijelom moglo podržati teoriju o transportnim proteinima kao mogućem uzroku rezistencije na antiepileptike, ali ipak prije konačnog zaključka potrebno je istražiti i druge čimbenike koji sudjeluju u cjelokupnoj interakciji lijeka s organizmom. Osim promjena u distribuciji, farmakorezistencija može biti posljedica izmjenjenog metabolizma antiepileptičkih lijekova. Većina antiepileptika se metabolizira u jetri. U hidroksilaciji, oksidaciji i redukciji sudjeluju enzimi iz obitelji citokroma P450 (CYP). Konjugaciju provode enzimi UGT1, UGT2, NAT1, NAT2 i GST čiji utjecaj na farmakorezistenciju još uvijek nije u potpunosti istražen. Dokazana je povezanost između polimorfizma CYP gena i posljedične alteracije funkcije citokrom P450 enzima s različitim stupnjem metabolizma antiepileptika.(83) Budući citokrom P450 i MDR1 protein uglavnom imaju zajedničke supstrate i simultano su inducirani istim lijekovima teško je izdvojiti povećanu ekspresiju samo jednog od navedenih kao izoliranog uzroka farmakorezistencije.(84)

Za razliku od farmakokinetike, farmakodinamika označava interakciju lijeka s njegovim ciljnim mjestom djelovanja u organizmu. Stoga promjene ciljnog mjesta djelovanja antiepileptika, uslijed genetskih alteracija, mogu uzrokovati promjenjenu interakciju lijeka s njegovim ciljnim mjestom djelovanja. Među ta ciljna mjesta djelovanja ubrajaju se o naponu ovisni kanali (natrijski, kalijevi, kalcijski), GABA i glutamatni receptori. S razlogom se pretpostavlja kako konstitucijske promjene ciljnih mjesta djelovanja mogu biti jedan od mogućih uzroka farmakorezistencije. Među najistraživanijima u ovoj skupini su geni koji kodiraju o naponu ovisne natrijske kanale.

## 1.5. O naponu ovisni natrijski kanali

### 1.5.1. Stanična membrana i ionski kanali

Neuroni, kao i ostale stanice u ljudskom tijelu, od svoje okoline su odvojeni staničnom membranom koja se sastoji od lipidnog dvosloja čiji najveći dio čine sfingomijelin, fosfatidilkolin, fosfatidilserin i fosfatidiletanolamin. Uz njih se unutar membrane nalaze i inozitolni fosfolipidi te glikolipidi. Njihova raspodjela unutar stanične membrane je asimetrična – inozitolni fosfolipidi nalaze se samo na unutranjem dijelu, a glikolipidi samo na vanjskom. Jedino se fosfatidilserin (negativno nabijen) nalazi na unutarnjoj strani membrane. Na staničnoj membrani nalaze se membranski proteini koji u nju mogu biti uloženi djelomično (periferni proteini koji se nalaze samo s vanjske ili samo s unutranje strane lipidnog dvosloja) ili u potpunosti (transmembranski proteini). Proteini koji su samo djelomično uloženi u staničnu membranu s vanjske strane sudjeluju u procesima staničnog prepoznavanja, dok oni uloženi s unutarnje strane u procesima unutarstanične signalizacije. Za razliku od njih, transmembranski proteini imaju mogućnost djelovanja s obje strane stanične membrane kao i prenošenja molekula kroz staničnu membranu. Po svojstvima su amfilni, odnosno imaju hidrofobni i hidrofilni dio. Hidrofobni dio smješten je unutar lipidnog dvosloja dok su hidrofilni dijelovi smješteni s vanjske strane membrane. Hidrofobni dio pojedinih transmembranskih proteina sastoji se od različitog broja transmembranskih domena. Transmembranske domene su s unutarnje i vanjske strane stanične membrane povezane petljama. Na tim petljama se najčešće nalaze vezna mjesta proteina. Prolaz molekula kroz staničnu membranu ovisi o selektivnoj permeabilnosti, stoga hidrofobne i male, električki neutralne molekule kroz membranu prolaze slobodnom difuzijom, makromolekule prolaze endocitozom i egzocitozom, dok hidrofilne molekule

i ioni prolaze uz pomoć transmembranskih proteina – nosača i kanala. Nosači slijedom konformacijskih promjena prenose svoje supstrate kroz staničnu membranu i sudjeluju u aktivnoj difuziji, odnosno prenošenju iona suprotno ionskom gradijentu. Jedan od takvih nosača je i Na - K ATPaza, protein koji istovremeno izbacuje ione natrija iz stanice, a u nju ubacuje ione kalija. Jedan od rezultata aktivnosti Na - K ATPaze jest i stvaranje električnog potencijala membrane u mirovanju. Za razliku od nosača, ionski kanali omogućuju pasivni prijenos anorganskih iona kroz staničnu membranu. No oni nisu obične membranske pore - svaki ionski kanal ima visoku selektivnost (npr. za  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ione) i za razliku od običnih pora oni posjeduju vrata, odnosno svaki od njih se može nalaziti ili u otvorenom ili u zatvorenom stanju. Otvaranje vrata kanala može biti uzrokovano različitim podražajima poput promjene membranskog potencijala ili pak vezanja liganda. Postoji više različitih vrsta kanala. Dije se na o naponu ovisne kanale, kanale regulirane ligandom, kanale regulirane neurotransmiterom, kanale regulirane unutarstaničnim ionom, kanale regulirane mehaničkim naprezanjem i kanale regulirane unutarstaničnim nukleotidom.

O naponu ovisni kanali odgovorni su za stvaranje električnih potencijala živčanih stanica. Njihova funkcija sastoji se u aktivaciji (pri čemu dolazi do povećane propusnosti za ione), koja se mjeri u milisekundama, i susljednoj inaktivaciji (pri čemu dolazi do smanjene propusnosti kanala za ione), također mjerenoj u milisekundama.

Sve vrste ionskih kanala imaju sličnu strukturu, a sastoje se od četiri transmembranske domene od kojih svaka sadrži šest podjedinica (S1 - S6). Uz glavne podjedinice, kanali posjeduju i pridružene, regulacijske podjedinice. Aktivacija o naponu ovisnog membranskog kanala posljedica je promjene membranskog potencijala koji uzrokuje promjenu konformacije transmembranskih domena i njegovo otvaranje. Kako bi do

navedenog procesa došlo, neophodna je prisutnost dijela kanala koji ima ulogu senzora, kao i pravilno funkcioniranje ostalih dijelova kanala.(85)

### 1.5.2. Struktura i funkcija o naponu ovisnih natrijskih kanala

O naponu ovisne natrijske kanale čine alfa i beta podjedinice. Alfa podjedinica, veličine 260 kD, posjeduje četiri domene (I - IV) od kojih se svaka sastoji od šest međusobno povezanih transmembranskih segmenata (S1 - S6). Četvrti segment (S4) ima funkciju senzora napona (uslijed prisutnosti pozitivno nabijene aminokiseline na svakoj trećoj poziciji). Potaknut promjenom potencijala, ovaj segment migrira prema ekstracelularnom prostoru omogućujući nesmetan utok natrijskih iona u stanicu. Petlje između petog (S5) i šestog (S6) segmenta svake domene, a koje se nalaze ekstracelularno, definiraju ionsku selektivnost. Citoplazmatska petlja između trećeg (S3) i četvrtog segmenta je mjesto inaktivacije kanala, poznata pod nazivom inaktivacijska vrata.<sup>(86)</sup> Beta podjedinice, veličine 33 – 36 kD, nalaze se u četiri izoforme ( $\beta 1$  -  $\beta 4$ ). Njihova funkcija je modifikacija kinetike kanala, o naponu ovisnog otvaranja i zatvaranja kanala (engl. gating) te komunikacija s ekstracelularnim matriksom, drugim adhezijskim molekulama i citoskeletom.<sup>(87)</sup>

O naponu ovisni natrijski kanali mogu postojati u tri različita stanja – deaktivirano (zatvoren), aktivirano (otvoren) i inaktivirano stanje (zatvoren). U deaktiviranom stanju kanal je na citoplazmatskoj strani zatvoren aktivacijskim vratima čijim otvaranjem kanal prelazi u aktivirano stanje. Nakon prelaska u aktivirano stanje slijedi aktivacija inaktivacijskih vrata (petlja između trećeg i četvrtog segmenta) i posljedične inaktivacije kanala. Inaktivacija perzistira nekoliko milisekundi nakon depolarizacije te potom, u tijeku repolarizacije membrane, dolazi do prekida inaktivacije i prelaska kanala u deaktivirano stanje što omogućuje aktivnost kanala tijekom slijedećeg akcijskog potencijala. Natrijski kanali su tijekom mirovanja membrane zatvoreni, odnosno u deaktiviranom stanju. Ubrzo nakon promjene potencijala, odnosno depolarizacije,



naglo se otvaraju. Struja natrijskih iona koja ulazi u stanicu rapidno se smanjuje kako kanali prelaze u inaktivirano stanje, što se događa tijekom dulje depolarizacije. Nakon inaktivacije, neophodna je hiperpolarizacija kako bi kanali prešli iz inaktiviranog u stanje mirovanja, odnosno deaktivirano stanje. Sve navedene promjene događaju se u vremenskom periodu od svega nekoliko milisekundi.(88)

O naponu ovisni natrijski kanali nalaze se u somi neurona, na aksonima i aksonalnim završecima. To su kanali koji omogućuju izbijanje akcijskih potencijala visokim frekvencijama što je ujedno i osnova za razvoj epileptogene aktivnosti. Dio antiepileptika, uključujući lamotrigin, djeluje upravo na o naponu ovisne natrijske kanale, i to vežući se za različita ciljna mjesta na alfa podjedinici.(89, 90)

### 1.5.3. Djelovanje antiepileptika na o naponu ovisne natrijske kanale

Osnovni mehanizam djelovanja karbamazepina, lamotrigina i fenitoina je blokiranje o naponu ovisnih natrijskih kanala i to na način da se njihov potencijal za blokiranje kanala potencira repetitivnim izbijanjem kanala velikim frekvencijama. To se naziva o upotrebi ovisno svojstvo vezanja na o naponu ovisne natrijske kanale (engl. use - dependent). Ovo svojstvo ima veliku važnost budući navedenim djelovanjem dolazi do selektivne inhibicije kanala koji repetitivno izbijaju, dok paralelno ne dolazi do inhibicije kanala koji uredno funkcioniraju. Navedeni antiepileptici imaju i veći afinitet za kanale koji se nalaze u inaktiviranom stanju od onih u deaktiviranom stanju. To je drugo, o naboju ovisno blokiranje kanala (engl. voltage - dependent). Rezultat navedenog je usporen prelazak iz inaktiviranog u deaktivirano stanje kanala, odnosno u stanje u kojem je moguća ponovna aktivacija kanala.(86)

## 1.6. Geni koji kodiraju o naponu ovisne natrijske kanale

### 1.6.1. SCN geni i o naponu ovisni natrijski kanali u živčanom sustavu

Geni koji kodiraju o naponu ovisne natrijske kanale (SCN geni) su obitelj visoko sačuvanih gena s kodirajućim sekvencama za transmembranske domene alfa podjedinica koje su u više od 50 % identične u čovjeka i najjednostavnijih eukariota.(90) Genom sisavaca sadrži ukupno trinaest gena za o naponu ovisne natrijske kanale - četiri gena koji kodiraju beta podjedinice te devet gena koji kodiraju alfa podjedinice natrijskog kanala, a koje se međusobno razlikuju na temelju svojih biofizičkih karakteristika. U mozgu su prisutne četiri izoforme alfa podjedinica  $Na_v$  1.1,  $Na_v$  1.2,  $Na_v$  1.3 i  $Na_v$  1.6 kodirane genima SCN1A, SCN2A, SCN3A i SCN8A.(91 - 93) Izoforme  $Na_v$  1.1 i  $Na_v$  1.3 su dominantno lokalizirane u somi neurona,  $Na_v$  1.2 na nemijeliniziranim aksonima i dendritima dok se  $Na_v$  1.6 najvećim dijelom nalaze u mijeliniziranim aksonima i dendritima.(94 - 97) SCN1A, SCN2A i SCN3A geni su locirani na drugom kromosomu i proteini koje kodiraju vrlo su sličnih svojstava, dok je SCN8A lociran na petnaestom kromosomu i nije usko evolucijski povezan s ostala tri.(98)

### 1.6.2. Mutacije SCN gena kao uzrok epilepsije

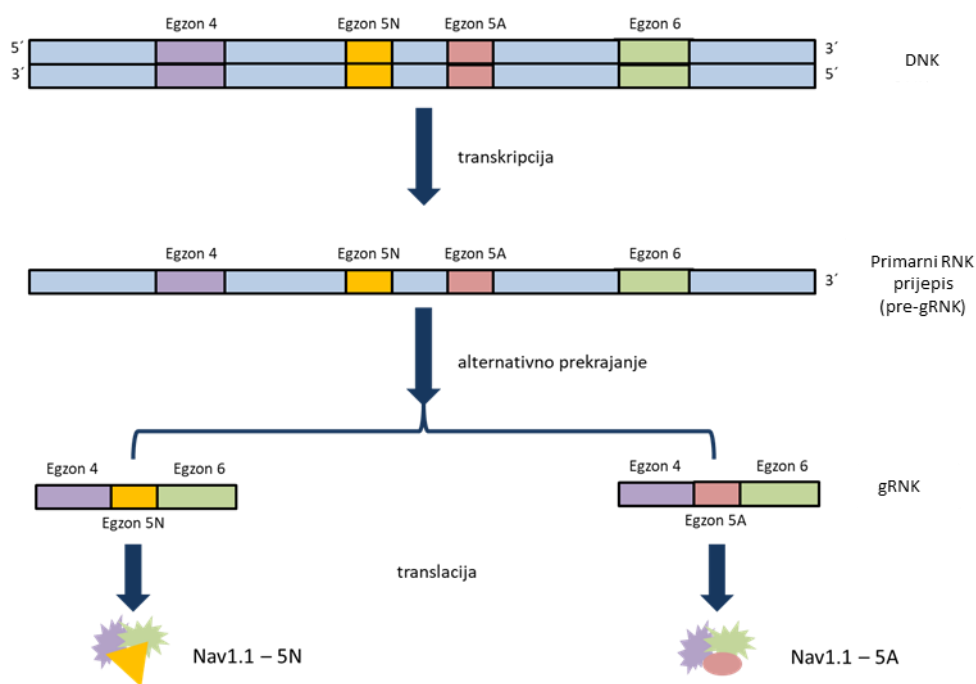
Od prvog otkrića genske mutacije u podlozi idiopatske epilepsije 1995. godine, u vezu s epilepsijom pokušano je dovesti veliki broj gena koji kodiraju o naponu ovisne i o ligandu ovisne kanale u središnjem živčanom sustavu.(99)

No povezanost genotipa i fenotipa u epilepsiji je vrlo kompleksna. Primjera radi, određene vrste epilepsije (autosomno dominantna epilepsija frontalnog režnja - ADFLE, genetska epilepsija s febrilnim konvulzijama plus - GEFS+) mogu biti posljedica mutacija različitih gena kao što i mutacija istog gena kod različitih pojedinaca može rezultirati različitom kliničkom slikom. GEFS+ je idealan primjer poligenetskog i polifenotipskog entiteta. Mutacije gena koji kodiraju o naponu ovisne natrijske kanale prvo su otkrivene u bolesnika koji su bolovali od GEFS+ sindroma, autosomno dominantnog poremećaja koji se prezentira kao benigni epileptički sindrom u većine bolesnika, a karakteriziran je febrilnim konvulzijama u djetinjstvu i susljednim heterogenim afebrilnim napadima uključujući mioklone, toničko - kloničke, atoničke, apsanse te žarišne napade.(100) Mutacije prisutne u GEFS+ sindromu su uglavnom pogrešne mutacije (eng. missense) uslijed kojih dolazi do zamjene jednog nukleotida drugim što uzrokuje promjenu kodona koji posljedično tome kodira različitu aminokiselinu.(101) Kao uzrok GEFS+ sindroma navode se polimorfizmi SCN1A, SCN2A, SCN1B gena te gena koji kodiraju receptore za gamaaminomaslačnu kiselinu.(101) Nakon detekcije mutacija SCN1A gena u bolesnika s GEFS+ sindromom, de novo mutacije istog gena pronađene su i u djece koja su bolovala od Dravet sindroma, odnosno teške mioklone epilepsije dječje dobi refrakterne na antiepileptičku terapiju i praćene psihomotornim zaostajanjem u razvoju.(102) Izuzev u Dravet sindromu, SCN1A mutacije detektirane su i drugim teškim epileptičkim

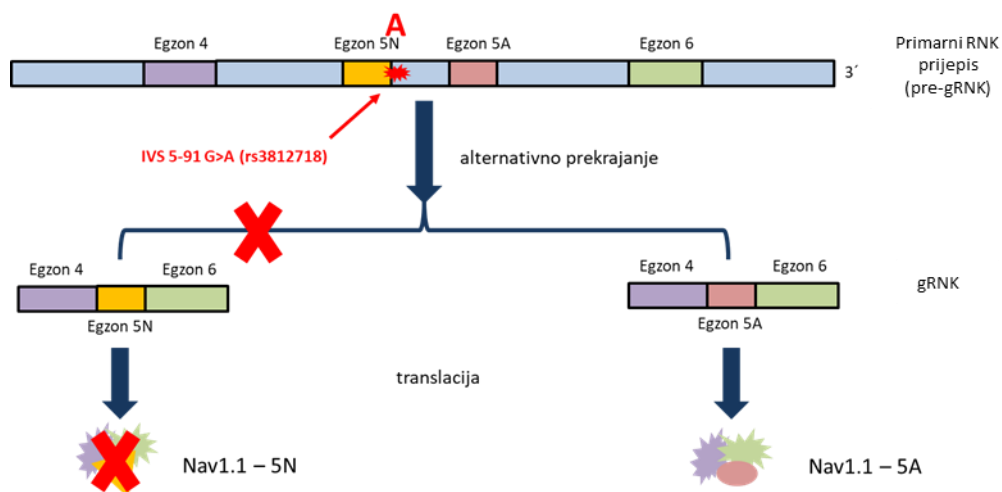
sindromima dječje dobi.(103) Sugawara i suradnici su 2001. godine objavili prisutnost dvije mutacije SCN1A gena u bolesnika s febrilnim konvulzijama, u kojih su se kasnije tijekom života javili žarišni napadi. Jedna od tih mutacija je Val1428Ala supstitucija u regiji koja ima ključnu ulogu u procesu stvaranja pore kanala, dok druga Ala1685Val uzrokuje promjene u transmembranskom heliksu.(104) Kasniji radovi detektirali su nove pogrešne mutacije SCN1A gena u bolesnika sa žarišnom epilepsijom.(105 - 109) U bolesnika s epilepsijom temporalnog ishodišta uz mutacije SCN1A gena, detektirane su i mutacije gena za kalijeve kanale, interleukin, prion protein, alipoprotein E i dr.(110 - 112)

### 1.6.3. Utjecaj polimorfizma rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) SCN1A gena na alternativno prekrajanje i karakteristike izoformi Nav1.1 kanala

Polimorfizam prema definiciji označava pojavu više od jednog alela na genskom lokusu. Lokus je polimorfan ako se drugi alel javlja u populaciji s frekvencijom 5 % ili više.(113) Jednonukleotidni polimorizmi (SNP, od engl. single nucleotid polymorphism) su prema definiciji nukleotidne pozicije unutar DNK koje su polimorfične.(114) Primarni RNK prijepis (pre - gRNK) SCN gena podliježe alternativnom prekrajanju. Alternativno prekrajanje je proces koji se događa u oko 60 % ljudskih gena i predstavlja važan mehanizam nužan za postizanje proteinske različitosti u organizmu.(115, 116) Gen SCN1A koji kodira Nav 1.1 izoforme sastoji se od dva egzona 5, tzv. 5N (neonatalni) i 5A (adultni). Egzon 5 kodira dio domene 1 S3/S4 heliksa natrijskog kanala.(117) Polimorfizam rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A), koji se nalazi unutar tzv. konsenzus sekvence smještene neposredno iza egzona 5N SCN1A gena, uzrokuje blokiranje inkorporacije egzona 5N u glasničku RNK (gRNK) posljedica čega je promjena proporcije transkripata SCN1A gena koji sadrže kanonski egzon (5A) ili alternativni egzon (5N), a čijom translacijom dolazi do stvaranja dvije izoforme Nav 1.1 kanala (Slika 1).(118) Navedene izoforme se razlikuju u 1 - 6 aminokiselina unutar područja koji služi kao senzor napona. Izuzev strukturne razlike, navedene izoforme pokazuju i funkcionalnu različitost.(119)



Slika 1. Shematski prikaz transkripcije i alternativnog prekrajanja SCN1A gena



Slika 2. Modifikacija alternativnog prekrajanja pre-mRNA u prisutnosti A alela

5N egzon je nazvan neonatalni (N) jer se u prvim istraživanjima SCN gena predpostavljalo da se navedeni egzon inkorporira u gRNK samo tijekom neonatalnog razdoblja, dok se za 5A ili adultni (A) egzon smatralo kako se inkorporira u gRNK samo u odraslih osoba.(120) No kasnijim istraživanjima utvrđeno je kako striktna podjela u biti ne postoji te kako se 5N izoforme mogu naći i u mozgu odraslih osoba.(121, 122) U slučaju rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma, prisutnost A alela uzrokuje blokiranje inkorporacije egzona 5N u gRNK čime se smanjuje proporcija broja Nav1.1 - 5N izoformi o naponu ovisnih kanala (Slika 2).(123) Heinzen i suradnici su u svom radu konstatirali kako se postotak inkorporiranja egzona 5N kreće oko 1% za AA te oko 50% za GG genotip.(120) Thompson i suradnici su u svom radu ispitujući biofizička i farmakološka svojstva izoformi o naponu ovisnih natrijskih kanala (Nav1.1 - 5A i Nav1.1 - 5N) ukazali kako su Nav 1.1 - 5N kanali osjetljiviji na fenitoin i lamotrigin, odnosno navedeni antiepileptici snažnije inhibiraju Nav 1.1 - 5N kanale. Nadalje, ukazali su kako bolesnici koji su nosioci G alela imaju veće proporcije Nav1.1 - 5N izoformi u mozgu. Na temelju biofizičkih razlika izoformi i odgovora na primjenu antiepileptika zaključili su kako u navedenim izoformama postoji alosterička modifikacija ciljnih mjesta vezanja koja direktno utječe na njihovu osjetljivost na blokiranje antiepilepticima čija su oni ciljna mjesta djelovanja.(121)



#### 1.6.4. Polimorfizmi SCN gena i farmakorezistencija

Remy i suradnici su 2003. godine ukazali na moguću povezanost poremećaja o naponu ovisnih natrijskih kanala i rezistencije na karbamazepin u bolesnika s epilepsijom temporalnog ishodišta. Oni su, naime, pokazali kako u bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom, ali i u eksperimentalnim modelima, karbamazepin gubi svojstvo blokiranja kanala ovisno o njihovoj aktivnosti te nema učinak na brzi oporavak od inaktivacije. Time su ukazali kako je farmakorezistencija u bolesnika s epilepsijom temporalnog ishodišta moguće povezana s neosjetljivošću o naponu ovisnih natrijskih kanala na karbamazepin.(122)

Tate i suradnici su 2005. godine objavili kako polimorfizam rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) utječe na visinu maksimalne doze antiepileptika fenitoina i karbamazepina u bolesnika s epilepsijom te su za oba lijeka prosječne maksimalne doze ovisile o genotipu pojedinca u relaciji AA > GA > GG.(119) Nedugo od objave navedenog istraživanja, Tate s izmjenjenom grupom autora objavljuje povezanost polimorfizma rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) i serumske koncentracije fenitoina pri dozi održavanja u kojima su se serumske koncentracije razlikovale među genotipima prema obrascu AA > GA > GG, kao i u predhodnoj studiji, no isti obrazac nisu uspjeli povezati s visinom doze održavanja i maksimalnom dozom fenitoina, što u konačnici nije rezultiralo potpunim replikacijom prvotne studije.(123) Razlozi za navedeno moguća su posljedica neuniformnog režima doziranja fenitoina što je razvidno u različitim rasponima doza fenitoina (90 - 900 mg / d u studiji iz 2005. i 100 - 600 mg / d u studiji iz 2006.), različitim populacijama bolesnika s epilepsijom i različitim etničkih skupina. Vodeći se idejom kako rezistencija na antiepileptike može biti posljedica polimorfizama gena za o naponu ovisne natrijske kanale, 2008. godine Kwan i suradnici su objavili

rezultate studije u kojoj je analizirano dvadeset i sedam jednonukleotidnih polimorfizama SCN1A, SCN2A i SCN3A gena u 471 kineskog bolesnika. Bolesnici su bili podjeljeni u dvije skupine – farmakorezistentnu i skupinu koju su činili bolesnici koji su dobro odgovarali na terapiju antiepilepticima. Povezali su polimorfizam SCN2A gena (IVS 7 – 32 A > G tj. rs2304016) s lošim odgovorom na terapiju svim ispitivanim antiepilepticima te predložili navedeni polimorfizam kao potencijalni marker rezistencije na antiepileptike. Konstatirali su kako navedeni polimorfizam nije nužno direktno odgovoran za rezistenciju na antiepileptike, već je moguće da utječe na druge genetske alteracije koje direktno modificiraju osjetljivost na antiepileptike. U ovom istraživanju autori nisu uspjeli potvrditi povezanost polimorfizma rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) s rezistencijom na antiepileptike.(124) Iako su autori jasno objasnili kriterije za dobar odgovor i rezistenciju, nažalost nisu spomenuli koje antiepileptike i u kojim dozama su bolesnici uzimali. Iz opisa metodologije moguće je razaznati kako su u istraživanje bili uključivani i bolesnici na politerapiji (dva i više antiepileptika), ali nema podataka o kombinacijama antiepileptika što je u konačnici neizmjerno bitno radi prije spomenutih interakcija antiepileptika koje mogu utjecati na učinkovitost lijeka. Populacija bolesnika uključenih u ovo istraživanje je bila vrlo heterogena s najvećim brojem bolesnika sa simptomatskom epilepsijom (no bez navedene etiologije), za koje su u konačnici i opservirali kako čine najveći dio farmakorezistentnih bolesnika.(124)

Iste godine Abe i suradnici uspijevaju dokazati povezanost polimorfizma rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) SCN1A gena s epilepsijom rezistentnom na terapiju karbamazepinom. Oni su u istraživanju na japanskim bolesnicima s epilepsijom dokazali kako je frekvencija AA genotipa viša u bolesnika koji su farmakorezistentni, no nisu uspjeli detektirati utjecaj polimorfizma na doze održavanja i maksimalne doze karbamazepina. Autori isto objašnjavaju drugačijim režimom doziranja, točnije, navode

kako je u njihovom istraživanju kod opaženog slabijeg djelovanja, trenutni antiepileptik zamijenjen drugim, a nije povisivana doza do maksimalne tolerabilne, kao i činjenicom kako su općenito doze antiepileptika koje se propisuju u Japanu niže od doza koje se propisuju u Europi.(125) Bitno je naglasiti kako su većina ispitanika uključenih u ovo istraživanje bile sobe s mentalnom retardacijom te je upitno koliko su rezultati primjenjivi na osobe koje osim epilepsije nemaju drugih komorbiditeta.

2011. godine objavljeni su rezultati istraživanja provedenog na 883 talijanskih bolesnika s dijagnozom žarišne simptomatske ili kriptogene epilepsije kojim je pokušano utvrditi povezanost rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma s odgovorom na terapiju karbamazepinom i okskarbazepinom.(126) Oko polovice od ukupnog broja bolesnika je bilo na monoterapiji karbamazepinom ili okskarbazepinom. U ovom istraživanju frekvencija AA genotipa nije se značajnije razlikovala između skupine s dobrim odgovorom na terapiju i skupine bolesnika koji su bili farmakorezistentni. Nisu uspjeli dokazati značajnu povezanost rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma s odgovorom na terapiju karbamazepinom i okskarbazepinom. Također, nisu uspjeli potvrditi povezanost AA genotipa i rezistencije na karbamazepin kao što je to nekoliko godina ranije objavio Abe sa svojim suradnicima.(125) Slične rezultate, odnosno rezultate koji nisu potvrdili utjecaj rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma na visinu doze karbamazepina, ali u austrijskih bolesnika, objavio je Zimprich sa suradnicima 2008. godine.(127) Nadalje, i Sánchez sa suradnicima u svojem istraživanju nije uspio potvrditi povezanost između jednonukleotidnih polimorfizama gena CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 i SCN1A i epilepsije rezistentne na terapiju.(128) Uz karbamazepin, okskarbazepin i fenitoin, utjecaj rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) istraživao je i u bolesnika na terapiji natrijevim valproatom. Haerian je sa suradnicima 2012. godine objavio multicentričnu kohortnu studiju na kineskim bolesnicima s epilepsijom na monoterapiji

natrijevim valproatom. Njihovi rezultati nisu potvrdili utjecaj ovog polimorfizma na odgovor na terapiju natrijevim valproatom. U nastavku svojeg istraživanja učinili su meta analizu u koju su uključeni rezultati još četiri studije koje do tada nisu uspjele dokazati povezanost rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) s rezistencijom na antiepileptike. U konačnici nisu uspjeli potvrditi povezanost između navedenog polimorfizma i odgovora na antiepileptičku terapiju.(129) Zhou je u svojem istraživanju iz 2012. godine ukazao kako doza održavanja karbamazepina ovisi o rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizmu, odnosno kako nosioci AA genotipa imaju prosječno više doze karbamazepina u terapiji u usporedbi s nosiocima GG genotipa. U zaključku navodi kako je A alel navedenog polimorfizma prediktor za prekid uzimanja karbamazepina (engl. non-retention).(130, 131) Iste godine Sterjev i suradnici nisu uspjeli potvrditi povezanost rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma s rezistencijom na karbamazepin u makedonskih bolesnika s epilepsijom.(132) Kumari je sa svojim suranicima 2013. godine objavio studiju koja također nije uspjela utvrditi povezanost rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma s odgovorom na antiepileptike (karbamazepin / okskarbazepin / politerapija), ali je u njihovoj skupini bolesnika frekvencija GA i AA genotipa bila značajno viša u bolesnika s epilepsijom nego u kontrola te su postavili tezu kako je navedeni polimorfizam mogući rizični čimbenik za sklonost pojavi epilepsije.(133) Haerian je ponovno 2013. godine objavio rad u kojem je sa svojim suradnicima analizirao 39 jednonukleotidnih polimorfizama SCN1A, SCN2A i SCN3A gena u bolesnika s epilepsijom na monoterapiji karbamazepinom i natrijevim valproatom. Njihovi rezultati ne ukazuju na povezanost ispitivanih jednonukleotidnih polimorfizama (uključujući i rs3812718 SCN1A gena) s odgovorom na terapiju. Dodatno učinjenom meta analizom obuhvatili su studije koje su istraživale SCN1A rs3812718, SCN1A rs2298771 i SCN2A rs 17183814 polimorfizme i temeljem

rezultata navedene meta analize nisu potvrdili povezanost navedenih polimorfizama s odgovorom na antiepileptičku terapiju.(134) 2014. godine Ma i suranici objavili su kako je AA genotip značajno učestaliji u bolesnika koji neadekvatno odgovaraju na terapiju karbamazepinom i okskarbazepinom te su ga direktno povezali s epilepsijom rezistentnom na karbamazepin i okskarbazepin.(135) 2015. godine objavljeno istraživanje na bolesnicima s okskarbazepinom u monoterapiji potvrdilo je utjecaj polimorfizma rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) SCN1A gena na doze održavanja okskarbazepina. Primjećeno je kako visina doze ovisi o genotipu, točnije bolesnici s AA genotipom bili su na prosječno višim dozama okskarbazepina u odnosu na bolesnike s GA i GG genotipom.(136) 2017. godine objavljeno je istraživanje o povezanosti rs3812718 (IVS 5-91 G>A) polimorfizma s odgovorom na antiepileptike (fenitoin, karbamazepin, okskarbazepin, lamotrigin) u mono i / li politerapiji provedno na grčkim bolesnicima s epilepsijom. Rezultati navedenog istraživanja ukazuju kako je prisutnost A alela rizični čimbenik za rezistenciju na monoterapiju, odnosno nosioci A alela (AA i GA genotip) zahtijevaju značajnije više doze antiepileptika od bolesnika s GG genotipom.(137) Do sada nije u potpunosti objavljeno niti jedno istraživanje o utjecaju rs3812718 (IVS 5 - 91 G > A) polimorfizma na učinkovitost lamotrigina. Dostupni su jedino objavljeni rezultati (u obliku sažetka) istraživanja provedenog u Rusiji na pedeset bolesnika s različitim oblicima epilepsije, a kojim je opservirano kako u bolesnika s epilepsijom postoji veća učestalost AA genotipa, što je i ranije opservirano, (133) te kako se efektivna doza lamotrigina kreće ovisno o genotipu u korelaciji AA > GA > GG.(138)

Razlike u rezultatima do sada objavljenih istraživanja i neuspjeha replikacije vjerojatna su posljedica neujednačenih kriterija pri odabiru bolesnika, uključivanja bolesnika s različitim vrstama epilepsije, razlike u veličini uzorka i njegovoj heterogenosti, etničkoj

pripadnosti ispitanika, razlike u terapiji (monoterapija ili politerapija), režimu doziranja te razlike u etiologiji same epilepsije. Budući se radi o specifičnim lijekovima čije djelovanje ovisi o nizu farmakokinetičkih parametara, ali i vrsti epilepsije ili sindroma koji se liječe, biti će potrebno još istraživanja kako bi se došlo do konačnog zaključka vezanog za genetske markere farmakorezistencije u bolesnika s epilepsijom. Za to će svakako biti neophodna velika, multicentrična istraživanja koja će obuhvatiti različite populacije i koja će se temeljiti na pravilnoj stratifikaciji bolesnika ovisno o terapiji koju uzimaju te svakako i vrsti epilepsije od koje boluju.

## 1.7. Farmakogenetika u liječenju epilepsije

Farmakogenetika je biomedicinska disciplina koja se počela razvijati početkom 20. stoljeća, a snažan razvoj ove discipline započeo je sedamdesetih godina prošlog stoljeća. Glavni cilj farmakogenetike je korištenje genetskih informacija pojedinca u procjeni njegova odgovora na terapiju, učinkovitosti terapije i pojavnosti nuspojava na primjenjeni lijek.(139) Farmakogenetika epilepsija je još uvijek u povojima, no unatoč tome, intenzivno se radi na pronalasku adekvatnih markera koji bi bili od velikog kliničkog značaja u modifikaciji terapije u bolesnika s epilepsijom. Idealan test bi trebao moći testirati veći broj različitih polimorfizama različitih gena čiji produkti sudjeluju i u farmakokinetici i u farmakodinamici antiepileptika, budući je farmakorezistencija na antiepileptike najvjerojatnije rezultat interakcija više gena.(140) Trenutno najveći izazov predstavlja detekcija ključnih gena i polimorfizama, te su aktualna istraživanja upravo usmjerena ka pronalasku gena i polimorfizama koji bi mogli imati utjecaja na odgovor na antiepileptičku terapiju.

Trenutno u kliničkoj praksi izbor antiepileptika u liječenju bolesnika oboljelih od epilepsije ovisi o različitim čimbenicima poput iskustva kliničara, kliničke slike, vrste epilepsije ili epilepsijskog sindroma, dostupnosti lijeka, komorbiditetima i konkomitantnim lijekovima. Činjenica je kako prvi propisani antiepileptik učinkovit u oko 50 - 60 % slučajeva.(15, 139) Stoga je lako zaključiti da bi uz navedeno, u obzir trebalo uzeti i druge čimbenike koji mogu imati potencijalni učinak na učinkovitost lijeka. Jedan od tih čimbenika je i interindividualna genetska različitost koja je osnova za primjenu farmakogenetike u kliničkoj praksi. Uz primjenu farmakogenetike mogla bi se povećati vjerojatnost točnog odabira antiepileptika za određenog bolesnika s određenom vrstom epilepsije ili epilepsijskim sindromom, vjerojatnost predviđanja

potencijalnih nuspojava lijekova u svakog pojedinog bolesnika kao i izbjeći nepotrebne terapijske režime koji uz neučinkovitost mogu i pogoršati prvobitno stanje bolesnika.(141) Sve navedeno rezultiralo bi poboljšanjem skrbi za svakog pojedinog bolesnika koja bi bila temeljena na liječenju krojenom sukladno njegovim genetskim karakteristikama. Liječenje epilepsije je dugotrajan i u dijela bolesnika kompliciran proces koji uvelike ovisi o odabranoj terapiji, suradljivosti bolesnika te njegovom odgovoru na primjenjenu terapiju. U liječenju epilepsije farmakogenetika, nažalost, još uvijek nema velikog utjecaja. Za sada najznačajniji utjecaj farmakogenetike i opravdanost njezine primjene u liječenju bolesnika s epilepsijom je u otkriću povezanosti HLA-B\*1502 alela s povećanim rizikom od nastanka malignog SJS i toksične epidermalne nekrolize (TEN) kao nuspojava karbamazepina u osoba azijskog podrijetla. Nastavno na navedeni podatak, nedavno objavljena meta analiza pokazala je kako u osoba azijskog podrijetla HLA-B\*4001, HLA-B\*4601, HLA-B\*5801 imaju protektivan učinak, dok je HLA-B\*1511 još jedan rizični čimbenik za razvoj karbamazepinom induciranog SJS ili TEN.(142) Svakodnevno raste broj informacija o novim mogućim uzrocima različitog odgovora na antiepileptičku terapiju no još uvijek nismo u mogućnosti sa sigurnošću tvrditi koje su genske alteracije odgovorne za navedene razlike. Problem je u nekonzistentnosti podataka koji se objavljuju, a koji su posljedica neujednačenih metodologija u do sada provedenim istraživanjima. Slijedom navedenog, jasno je kako se u području farmakogenetike epilepsija i dalje treba intenzivno raditi. S padom cijene i komercijalizacijom setova za genetske analize farmakogenetika će zasigurno naći svoje mjesto u liječenju epilepsija dok će istovremeno bolesnicima omogućiti najkvalitetniju i najučinkovitiju individualiziranu skrb.



Svrha ovog istraživanja je doprinos cjelokupnoj količini informacija vezanih za farmakogenetiku u liječenju epilepsija, točnije utvrđivanje utjecaja rs3812718 (IVS 5-91 G>A) polimorfizma SCN1A gena na učinkovitost lamotrigina u liječenju bolesnika s epilepsijom.

## **2. HIPOTEZA**

Polimorfizam rs3812718 SCN1A gena utječe na učinkovitost lamotrigina u liječenju epilepsija.

## **3. CILJEVI RADA**

OPĆI CILJ: Utvrditi povezanost polimorfizma rs3812718 gena SCN1A s odgovorom na terapiju lamotriginom.

SPECIFIČNI CILJEVI:

Povezati genotip AA polimorfizma rs3812718 s lošijim odgovorom na terapiju lamotriginom.

Utvrditi utjecaj genotipa GA i GG rs3812718 na odgovor na terapiju lamotriginom.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ispitanici

Etičko odobrenje za ovo istraživanje dobiveno je od strane Etičkog povjerenstva kliničke bolnice Dubrava i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Principi Helsinške Deklaracije poštivani su tijekom cijelog istraživanja. Pisani informirani pristanak dobiven je od svih ispitanika uključenih u istraživanje.

Uključni kriteriji za ovo istraživanje su bili: dob 18 - 70 godina, dijagnoza žarišne epilepsije (sa ili bez prelaska u bilateralne toničko - kloničke napade) sukladno smjernicama Internacionalne lige protiv epilepsije (ILAE),(143) minimum od dva napada prije uključivanja u istraživanje. Isključni kriteriji su bili: dijagnoza generalizirane epilepsije, dijagnoza ne - epileptičkih napada u bilo kojem trenutku trajanja bolesti, nemogućnost adekvatnog praćenja broja napada od strane bolesnika ili skrbnika, neuroradiološki nalaz koji ukazuje na strukturno oštećenje mozga ili neurodegenerativnu bolest koji bi mogli biti uzrok epilepsije, dijagnoza psihijatrijske bolesti, anamnestički podatak o zlouporabi alkohola ili droga, politerapija antiepileptičkim lijekovima.

Prikupljeni podaci za svakog bolesnika uključivali su dob, spol, dob početka bolesti, trajanje bolesti, frekvenciju napada prije i tijekom istraživanja, dozu lamotrigina i nuspojave ukoliko su iste zabilježene.

## 4.2. Terapijski protokol

Bolesnicima koji su zadovoljili kriterije za uključivanje u istraživanje započeta je terapija lamotriginom. Na kontrolnim vizitama, provođenim u intervalima od tri mjeseca doza lamotrigina je korigirana ovisno o kliničkom odgovoru bolesnika do maksimalne tolerabilne doze. Ukoliko je bolesnik doživio epileptički napad nakon postizanja maksimalne tolerabilne doze isti je bio uvršten u skupinu bolesnika koji nisu imali dobar odgovor na lamotrigin i isključen je iz daljnjeg praćenja. U ovom istraživanju dobar odgovor na lamotrigin je definiran redukcijom epileptičkih napada za  $\geq 75\%$  tijekom praćenja u duljini od jedne godine. Pojava ozbiljnih nuspojava na lamotrigin bila je kriterij za prekid praćenja. Prolazne i blage nuspojave nisu predstavljale isključni kriterij za ovo istraživanje. Ukoliko su se javile, iste su zabilježene u bolesnikov karton. Genetska analiza je provedena na kraju istraživanja i stoga rezultati iste nisu imali utjecaja na modifikaciju terapije bolesnika tijekom istraživanja.

#### 4.3. Genetska analiza

DNK je ekstrahirana iz uzoraka pune krvi, sakupljane u epruветama s Na - EDTA antikoagulansom koristeći KingFisher™ Purification System (Fisher Scientific Germany) set za DNK ekstrakciju (Qiagen, Germany). Genotipiziranje SCN1A IVS5-91G>A (rs3812718) polimorfizma (Gene Bank: NM\_001165963) je provedeno s TaqMan® SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, U.S.A., assay ID: C\_25982233\_10), sukladno uputama proizvođača. Sekvence primera i proba (5' → 3') su bili:

forward primer, TTTCAGAGTCTTGAGAGCTTTGAAAA;

reverse primer, TGTGACGTACCTGTAATAGGGAGTTC;

G proba, FAM-AATTCCAGGTAAGAAGTGA-MGB;

A proba, VIC-AATTCCAGGTAAAAAGTGA-MGB.

Analiza alela provedena je uz pomoć 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, U.S.A.).

#### 4.4. Statistička analiza podataka

Statistička analiza podataka provedena je programom SPSS, verzija 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Za sociodemografske i kliničke značajke bolesnika korišten je Mann-Whitney U test za dob, trajanje bolesti, broj napada te  $\chi^2$  test za spol. Binarna logistička regresija je korištena za izračun omjera izgleda povezanosti genotipa i alela s odgovorom na lamotrigin. Jednofaktorska analiza varijance i  $\chi^2$  test korišteni su za analizu distribucije genotipa i prosječnih doza lamotrigina. Statistički značajnim smatrane su vrijednosti  $p < 0.05$ .

## 5. REZULTATI

U istraživanje je uključeno sto bolesnika sa žarišnom epilepsijom. Sudjelovalo je 48 muškaraca i 52 žene prosječne dobi 36.4 ( $\pm$  15.3) godine. U skupini muškaraca prosječna dob iznosila je 34.73 ( $\pm$  15.03) godine dok je u skupini žena prosječna dob iznosila 38.26 ( $\pm$  15.46). Distribucija genotipa SCN1A (rs3812718; IVS 5 – 91 G>A) prikazana je u Tablici 1. Distribucija genotipa među ispitanicima je u skladu s Hardy-Weinbergovim ekvilibrijem: AA 31 (29.7 %), GA 47 (49.6 %), GG 22 (20.7 %).

Tablica 1. Distribucija genotipa među ispitanicima

Genotip	Broj ispitanika	<i>p</i>
AA	31	0.601
GA	47	
GG	22	

$\chi^2$  test

Od ukupnog broja bolesnika, 74 bolesnika zadovoljilo je kriterije za dobar odgovor na lamotrigin dok je 26 bolesnika imalo loš odgovor na lamotrigin sukladno kriterijima istraživanja. Nije opservirana statistički značajna razlika u distribuciji genotipa i alela između grupa, odnosno nije opservirana veća frekvencija AA genotipa niti A alela među bolesnicima koji su imali loš odgovor na lamotrigin. (Tablica 2.)

Tablica 2. Distribucija genotipa i alela u grupi bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin i grupi bolesnika s lošim odgovorom na lamotrigin

	Genotip				Alel		
	AA	GA	GG	<i>p</i>	A	G	<i>p</i>
Odgovor na LTG							
Dobar	22	34	18	0.633	56	52	0.624
Loš	9	13	4		22	17	

$\chi^2$  test

Između grupe bolesnika koji su dobro odgovorili lamotrigin te grupe bolesnika s lošim odgovorom na lamotrigin nije bilo značajne razlike u sociodemografskim karakteristikama. Ukupan broj napada prije uvođenja lamotrigina u terapiju je bio različit između ove dvije grupe bolesnika, sa značajno nižim prosječnim brojem napada u grupi bolesnika koji su dobro odgovorili na lamotrigin. (Tablica 3.)

Tablica 3. Sociodemografske i kliničke karakteristike između grupe bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin i grupe bolesnika s lošim odgovorom na lamotrigin

	Dobar odgovor (n=74)	Rezistentni (n=26)	<i>p</i>
Dob (godine)	31 (23-48)	33 (25-47)	0.550
Spol, n (%)			
ženski	37 (50.0)	15 (57.7)	0.499
muški	37 (50.0)	11 (42.3)	
Dob početka bolesti (godine)	21 (16-35)	21 (15-32)	0.860
Trajanje bolesti (godine)	7 (2-17)	10 (6-6)	0.130
Broj napada prije uvođenja lamotrigina	3 (2-6)	10 (3-24)	<0.001

Mann-Whitney U test za dob, trajanje bolesti i broj napada;  $\chi^2$  test za spol



Nije opservirana razlika u učestalosti dobrog odgovora na terapiju lamotriginom među bolesnicima ovisno o genotipu i alelu. (Tablica 4., Tablica 5.)

Tablica 4. Povezanost genotipa s dobrim odgovorom na terapiju lamotriginom

	Dobar odgovor	Jednovarijantni		Multivarijantni, prilagođen	
		OR	p	OR (95% CI)	p
Genotip					
AA	22 (71.0)	1		1	
AG	34 (72.3)	1.07	0.895	0.51 (0.12-2.18)	0.366
GG	18 (81.8)	1.84	0.369	0.37 (0.06-2.32)	0.289
Dob (godine)		1.00	0.724	1.01 (0.97-1.06)	0.683
Spol, n (%)					
ženski	37 (71.2)	1		1	
muški	37 (77.1)	1.36	0.500	0.87 (0.27-2.85)	0.822
Trajanje bolesti (godine)		0.99	0.590	0.98 (0.92-1.04)	0.490
Broj napada prije uvođenja lamotrigina		1.00	0.494	1.01 (1.00-1.02)	0.208
EEG prije uvođenja lamotrigina					
u granicama normale	22 (68.8)	1		1	
epileptiformno promijenjen	52 (76.5)	1.477	0.413	3.05 (0.78-11.95)	0.109
Dnevna doza (mg)		0.99	<0.001	0.99 (0.98-0.99)	<0.001

OR = odds ratio izračunat binarnom logističkom regresijom; CI = confidence interval

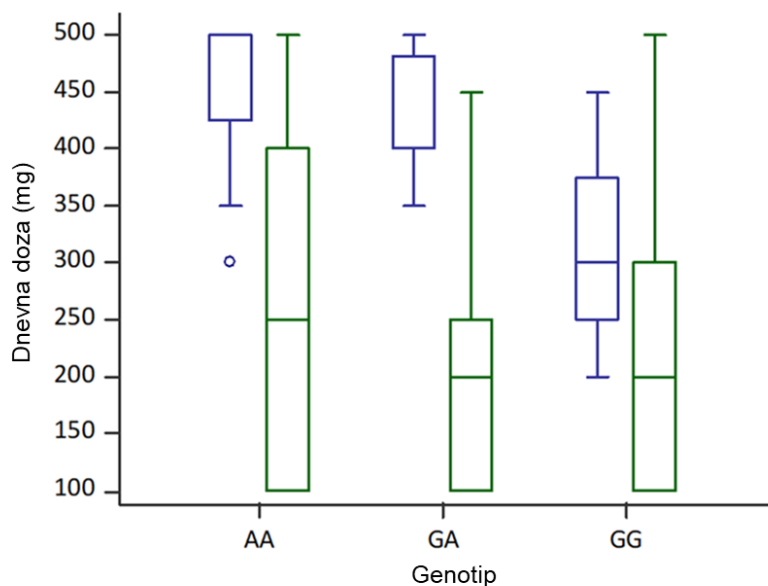
Tablica 5. Povezanost alela s dobrim odgovorom na terapiju lamotriginom

	Dobar odgovor	Jednovarijantni		Multivarijantni, prilagođeni	
		OR	p	OR (95% CI)	p
Alel					
A	56 (71.8)	0.57	0.348	1.38 (0.27-7.12)	0.701
G	52 (75.4)	1.25	0.643	0.51 (0.12-2.18)	0.366
Dob (godine)		1.00	0.724	1.01 (0.97-1.06)	0.683
Spol, n (%)					
ženski	37 (71.2)	1		1	
muški	37 (77.1)	1.36	0.500	0.87 (0.27-2.85)	0.822
Trajanje bolesti (godine)		0.99	0.590	0.98 (0.92-1.04)	0.490
Broj napada prije uvođenja lamotrigina		1.00	0.494	1.01 (1.00-1.02)	0.208
EEG prije uvođenja lamotrigina					
u granicama normale	22 (68.8)	1		1	
epileptiformno promijenjen	52 (76.5)	1.477	0.413	3.05 (0.78-11.95)	0.109
Dnevna doza (mg)		0.99	<0.001	0.99 (0.98-0.99)	<0.001

OR = odds ratio izračunat binarnom logističkom regresijom; CI = confidence interval

Medijan (IQR) dnevne doze lamotrigina iznosio je 200 mg (100 – 300 mg) u grupi bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin i 425 mg (388 – 500 mg) u grupi bolesnika s lošim odgovorom na lamotrigin. Razlika u navedenim dozama je statistički značajna (Mann-Whitney test,  $U=284$ ;  $Z=-5.43$ ;  $p<0.001$ ). (Graf 1.) Nije opservirana značajna interakcija genotipa i doza u odnosu na odgovor na terapiju.

Graf 1. Dnevne doze lamotrigina ovisno o genotipu



Plavom bojom označene su doze bolesnika s lošim odgovorom, zelenom bojom označene su doze bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin.

Nije opservirana statistički značajna razlika u visini dnevnih doza lamotrigina u grupi bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin, ali je visina dnevne doze ovisila o genotipu prema obrascu AA > GA > GG. (Tablica 6.)

Tablica 6. Srednje doze lamotrigina ovisno o genotipu u grupi bolesnika s dobrim odgovorom na terapiju.

Genotip				
	AA	GA	GG	<i>p</i>
Doza lamotrigina	270.45 ± 158.60	220.58 ± 121.92	200.00 ± 118.81	0.217
$\chi^2$ test				

## 6. RASPRAVA

Farmakorezistencija predstavlja veliki izazov u svakodnevnom liječenju bolesnika s epilepsijom. Osvrnemo li se na činjenicu kako je otprilike trećina bolesnika s epilepsijom rezistentna na antiepileptičku terapiju vrlo jednostavno, uzevši u obzir procijenjeni ukupni broj bolesnika koji boluju od epilepsije, možemo govoriti kako se trenutno u svijetu liječi oko 16 milijuna bolesnika rezistentnih na antiepileptičku terapiju. Brojke se multipliciraju ukoliko se govori o troškovima liječenja istih tih bolesnika. Studija s početka devedesetih godina prošlog stoljeća procijenila je kako godišnji trošak u Sjedinjenim Američkim Državama za liječenje farmakorezistentne epilepsije iznosi 11,745 \$ po osobi.(144) Još jedna studija ukazala je na korelaciju između kontrole bolesti i troškova liječenja, te je zaključak kako je liječenje bolesnika s farmakorezistentnom epilepsijom osam puta skuplje od liječenja bolesnika s dobro kontroliranom bolesti.(61) No, uz navedene direktne troškove liječenja farmakorezistentne epilepsije svakako je nužno spomenuti i indirektne troškove koji su posljedica smanjene produktivnosti na radnom mjestu kao i nerijetko gubitak radnog mjesta. Nažalost još uvijek nema podataka koliki je iznos indirektnih troškova farmakorezistentne epilepsije. Predpostavka je kako je njihova visina direktno ovisna o kontroli bolesti, posebno u osoba nižeg socioekonomskog statusa.

Unatoč kontinuiranom istraživanju još uvijek nije poznato koji su točni uzroci farmakorezistencije, no gledajući samu prirodu bolesti i obrazac odgovora na terapiju može se zaključiti kako većina farmakorezistentnih bolesnika pokazuje neadekvatan odgovor na antiepileptike od samog početka bolesti te se s pravom može sumnjati kako su interindividualne genetske razlike vodeći uzrok neadekvatnog odgovora na terapiju. O uzrocima farmakorezistencije postoji nekoliko hipoteza, jedna od njih je i

hipoteza o strukturalnoj promjeni mjesta vezivanja antiepileptika kao mogućem uzroku rezistencije.(59) Upravo na temelju te hipoteze započeto je istraživanje polimorfizama o naponu ovisnih natrijskih kanala koji su ciljna mjesta djelovanja jednog dijela antiepileptika. Jedan od tih polimorfizama je rs3812718 (IVS 5 - 91G > A) polimorfizam SCN1A gena. Brojne studije pokušale su dovesti navedeni polimorfizam u vezu s rezistencijom na karbamazepin, fenitoin i okskarbazepin. Lamotrigin ima drugačiju kemijsku strukturu od navedenih lijekova, no dijeli s njima vrlo sličan mehanizam djelovanja. In vitro studije ukazale su kako fenitoin, karbamazepin i lamotrigin dijele isto mjesto vezivanja na o naponu ovisnim natrijskim kanalima.(145, 146) Unatoč tome, do danas nema jasnih podataka o utjecaju rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polimorfizma na odgovor na terapiju lamotriginom. Do sada objavljeni rezultati studije provedene u Rusiji ukazuju na utjecaj navedenog polimorfizmana odgovor na lamotrigin u vidu većih prosječnih doza u nosioca AA genotipa.(138) Budući nije dostupna cijela studija već samo sažetak, nema podataka o samim ispitanicima (izuzev da su u istu uključeni bolesnici s različitim oblicima epilepsije) kao ni o protokolu istraživanja te je navedene rezultate nemoguće adekvatno interpretirati.

Ovo istraživanje je prvo istraživanje utjecaja rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polimorfizma SCN1A gena na odgovor na monoterapiju lamotriginom koje je provedeno na homogenoj skupini bolesnika sa žarišnom epilepsijom. Vodeći se rezultatima predhodnih istraživanja s drugim antiepilepticima koji s lamotriginom dijele isti mehanizam, odnosno pretpostavljeno ciljno mjesto djelovanja postavljena je hipoteza kako polimorfizam rs3812718 SCN1A gena utječe na učinkovitost lamotrigina u liječenju epilepsija. Provedenim istraživanjem nije dokazan utjecaj navedenog polimorfizma na učinkovitost lamotrigina. Rezultati ovog istraživanja pokazali su kako u skupini promatranih bolesnika rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polimorfizam SCN1A

gena nema utjecaja na odgovor na terapiju lamotriginom, točnije distribucija genotipa i alela suspektnih za neadekvatan odgovor na lamotrigin nije bila značajno različita između bolesnika s dobrim i lošim odgovorom na lamotrigin. Promatrajući skupinu bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin opservirana je tendencija višim dnevnim dozama u bolesnika a AA genotipom u odnosu na GA te GG genotip. Dnevne doze lamotrigina su se kretale ovisno o genotipu  $AA > GA > GG$ , ali nisu dosegle razinu statističke značajnosti. Navedeni rezultati slični su rezultatima Krikove i suradnika koji su u svojoj skupini bolesnika opservirali isti ovakav obrazac.(138)

Kritike usmjerene prema istraživanja polimorfizama temelje se na pretpostavkama kako je farmakorezistencija posljedica interakcija različitih polimorfizama istoga gena i / ili polimorfizama više različitih gena uz neizostavan utjecaj okolišnih faktora.(141)

Skeptici bi mogli podržati tezu kako je uloga jednog polimorfizma u ukupnom odgovoru organizma na aplicirani lijek upitna, što je opravdano ukoliko se pokuša determinirati samo jedan polimorfizam kao jedini uzrok farmakorezistencije. Međutim, kada se farmakorezistencija promatra kao posljedica ukupnih genetskih karakteristika pojedinca, uloga jednog polimorfizma, iako nije ključna, nikako nije zanimariva. Upravo radi toga, važno je utvrditi ulogu pojedinih polimorfizama koji imaju utjecaja na intrakcije lijeka i organizma čime će biti moguće složiti mozaik koji bi možda mogao u budućnosti definirati stvarni uzrok farmakorezistencije. Budućnost individualiziranog liječenja bolesnika s epilepsijom temelji se na detekciji gena i polimorfizama odgovornih za učinkovitost antiepileptika te uvođenju analize istih u svakodnevnu kliničku praksu, čime će biti moguće dobiti najtočniju informaciju koji je antiepileptik najadekvatniji za svakog pojedinog bolesnika, ovisno o njegovim genetskim karakteristikama, što bi u konačnici svakako moglo unaprijediti liječenje bolesnika s epilepsijom.

## 7. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata ovog istraživanja zaključuje se kako rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polimorfizam SCN1A gena nema utjecaj na odgovor na terapiju lamotriginom u promatranoj skupini bolesnika.

## 8. SAŽETAK

Polimorfizam rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) SCN1A gena povezivan je s neadekvatnim odgovorom na antiepileptike čiji mehanizam djelovanja je blokiranje o naponu ovisnih natrijskih kanala. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti utjecaj polimorfizma rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) SCN1A gena na odgovor na terapiju lamotriginom. Genetska analiza provedena je u sto bolesnika sa žarišnom epilepsijom. Nakon uvođenja lamotrigina u terapiju, bolesnici su dolazili na redovne kontrole svaka tri mjeseca na kojima je ovisno o kliničkom odgovoru korigirana doza lamotrigina do maksimalne tolerabilne doze. Dobar odgovor na lamotrigin definiran je kao 75 % i viša redukcija frekvencije napada na stabilnoj dozi lamotrigina tijekom 12 mjeseci. Nije opservirana značajna razlika u distribuciji genotipa i alela između bolesnika s dobrim odgovorom i onih s lošim odgovorom na lamotrigin, kao ni razlika u učestalosti dobrog odgovora na lamotrigin između genotipa. Prosječne dnevne doze lamotrigina u grupi bolesnika s dobrim odgovorom na lamotrigin nisu se statistički razlikovale, no opservirana je razlika doza između genotipa prema obrascu AA > GA > GG. Ovim istraživanjem nije potvrđen utjecaj polimorfizma rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) SCN1A gena na učinkovitost lamotrigina u liječenju žarišnih epilepsija.



## 9. SUMMARY

Influence of rs3812718 polymorphism in the SCN1A gene on lamotrigine efficacy in patients with partial epilepsy

Polymorphism rs3812718 (IVS 5 - 91G > A) of the sodium voltage-gated channel alpha subunit 1 (SCN1A) gene has been associated with inadequate sensitivity and responsiveness to common antiepileptic drugs. The purpose of this study was to investigate the effect of SCN1A rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polymorphism on the response to lamotrigine. SCN1A rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polymorphism was genotyped in 100 patients with focal epilepsy. After the introduction of lamotrigine, follow-up visits were performed every 3 months and lamotrigine dose was adjusted, in order to control disease, up to the maximum tolerable dose. Lamotrigine responsiveness was defined as a 75% and more reduction in seizure frequency on a stable dose of lamotrigine during 12 consecutive months. There was no significant difference in genotype and allele distribution between the responder and non-responder groups and no significant differences in the prevalence of responsiveness to lamotrigine between carriers of different genotypes. Average maintenance lamotrigine doses in the responder group differed by genotype in the order AA > GA > GG, but these differences did not reach statistical significance. Our data suggest no association between SCN1A rs3812718 (IVS 5 – 91 G > A) polymorphism and response to lamotrigine.

Ivana Marković, 2019.

## 10. POPIS LITERATURE

1. Magiorkinis E, Sidiropoulou K, Diamantis A. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. *Epilepsy Behav.* 2010;17:103-8.
2. Stol M. *Epilepsy in Babylonia. Cuneiform Monographs 2.* Groningen: STIX Publications; 1993. str. 5-7.
3. Eadie MJ, Bladin PF. *A disease once sacred: A history of the medical understanding of epilepsy.* Eastleigh: John Libbey and Company; 2001. str. 17-20.
4. Hughlings Jackson J. Remarks on the disorderly movements of chorea and convulsion. *Med Times Gaz.* 1867;ii:642-3.
5. Hughlings Jackson J. A study of convulsions. U: *Transactions of the St Andrews Medical Graduates' Association* 1869. 1870:162-204.
6. Leppert M, Anderson VE, Quattlebaum T i sur. Benign familial neonatal convulsions linked to genetic markers on chromosome 20. *Nature.* 1989;337:647-8.
7. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J i sur. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology.* 2017;88(3):296-303.
8. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P i sur. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia.* 2005;46:470–2.

9. Hesdorffer DC, Benn EK, Cascino GD, Hauser WA. Is a first acute symptomatic seizure epilepsy? Mortality and risk for recurrent seizure. *Epilepsia*. 2009;50:1102–8.
10. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE i sur. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82.
11. Shorvon SD. The causes of epilepsy: changing concepts of etiology of epilepsy over the past 150 years. *Epilepsia*. 2011;52(6):1033-44.
12. Shorvon SD. The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52(6):1052-7.
13. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L i sur. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-21.
14. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE i sur. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):522-30.
15. Kwan P, Brodie MJ. Drug treatment of epilepsy: When does it fail and how to optimize its use? *CNS Spectr*. 2004;9(2):110-9.
16. Lammers MW, Hekster YA, Keyser A, Meinardi H, Renier WO, van Lier H. Monotherapy or politherapy for epilepsy revisited: a quantitative assesment. *Epilepsia*. 1995;36:440-6.

17. Luszczycki JJ, Czuczwar M, Kis J, Krysa J, Pasztelan I, Swiader M i sur. Interactions of lamotrigine with topiramate and first-generation antiepileptic drugs in the maximal electroshock test in mice: an isobiologicraphic analysis. *Epilepsia*. 2003;44(8):1003-13.
18. De Sarro G, Nava F, Aguglia U, De Sarro A. Lamotrigine potentiates the antiseizure activity of some anticonvulsants in DBA/2 mice. *Neuropharmacology*. 1996;35(2):153-8.
19. Besag FM, Berry DJ, Pool F, Newbery JE, Subel B. Carbamazepine toxicity with lamotrigine: pharmacokinetic or pharmacodynamic interaction? *Epilepsia*. 1998;39(2):183-7.
20. Riva R, Albani F, Contin M, Baruzzi A. Pharmacokinetic interactions between antiepileptic drugs. Clinical considerations. *Clin Pharmacokinet*. 1996;31(6):470-93.
21. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G i sur. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010;51:1069–77.
22. Guénot M, Isnard J, Ryvlin P, Fischer C, Mauguière F, Sindou M. SEEG-guided RF thermocoagulation of epileptic foci: feasibility, safety, and preliminary results. *Epilepsia*. 2004;45(11):1368-74.
23. Pati S, Alexopoloulos AV. Pharmacoresistant epilepsy: From pathogenesis to current and emerging therapies. *Cleve Clin J Med*. 2010;77(7):457-67.

24. US Food and Drug Agency [Internet]. Lamictal full prescribing information. [pristupljeno 02. kolovoza 2017.];57 str. Dostupno na: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2009/022251,020764s029,020241s036lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/022251,020764s029,020241s036lbl.pdf)
25. Cheung H, Kamp D, Harris E. An in vitro investigation of the action of lamotrigine on neuronal voltage-activated sodium channels. *Epilepsy Res.* 1992;13:107-12.
26. Mutoh K, Dichter MA. Lamotrigine blocks voltage-dependent Na currents in a voltage-dependent manner with a small use-dependent component. *Epilepsia.* 1993;34(Suppl.6):87.
27. Waldmeier PC, Baumann PA, Wicki P, Feldtrauer JJ, Stierlin C, Schmutz M. Similar potency of carbamazepine, oxcarbamazepine and lamotrigine in inhibiting the release of glutamate and other neurotransmitters. *Neurology.* 1995;45:1907-13.
28. Meldrum BS, Leach M. The mechanism of action of lamotrigine. *Rev Contemp Pharmacother.* 1994;5:107-14.
29. Cunningham MO, Jones RS. The anticonvulsant lamotrigine decreases spontaneous glutamate release but increases spontaneous GABA release in the rat entorhinal cortex in vitro. *Neuropharmacology.* 2000;39(11):2139-46.
30. Hassel B, Taubøll E, Gjerstad L. Chronic lamotrigine treatment increases rat hippocampal GABA shunt activity and elevates cerebral taurine levels. *Epilepsy Res.* 2001;43(2):153-63.
31. Braga MF, Aroniadou-Anderjaska V, Post RM, Li H. Lamotrigine reduces spontaneous and evoked GABAA receptor-mediated synaptic transmission in

- the basolateral amygdala: implications for its effects in seizure and affective disorders. *Neuropharmacology*. 2002;42(4):522-9.
32. Stefani A, Spadoni F, Siniscalchi A, Bernardi G. Lamotrigine inhibits  $\text{Ca}^{2+}$  currents in cortical neurons: functional implications. *Eur J Pharmacol*. 1996;307(1):113-16.
  33. Gram L. Pharmacokinetics of new antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 1996;37:S12-S16.
  34. Perucca E. The clinical pharmacokinetics of the new antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 1999;40(Suppl. 9):S7-S13.
  35. Sharma C, Dubey R, Kumar H, Saha N. Food reduces the bioavailability of lamotrigine. *Indian J Med Res*. 2005;121:631-3.
  36. Castel-Branco M, Lebre V, Falcão A, Figueiredo I, Caramona M. Relationship between plasma and brain levels and the anticonvulsant effect of lamotrigine in rats. *Eur J Pharmacol*. 2003;482:163-8.
  37. Goa KL, Ross SR, Chrisp P. Lamotrigine: a review of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. *Drugs* 1993;46:152-76.
  38. Posner J, Cohen AF, Land G, Winton C, Peck AW. The pharmacokinetics of lamotrigine (BW430C) in healthy subjects with unconjugated hyperbilirubinaemia (Gilbert's Syndrome). *Br J Clin Pharmacol*. 1989;28:117-20.
  39. Goa KL, Ross SR, Chrisp P. Lamotrigine: a review of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. *Drugs*. 1993;46:152-76.
  40. Bourgeois BF. Pharmacokinetic properties of current antiepileptic drugs: What improvements are needed? *Neurology*. 2000;55(Suppl. 3):S11-S16.

41. Yuen AW, Land G, Weatherley BC, Peck AW. Sodium valproate acutely inhibits lamotrigine metabolism. *Br Clin Pharmacol*. 1992;33:511-3.
42. Shacter S, Leppik I, Matsuo F, Messenheimer JA, Faught E, Risner M, i sur. Lamotrigine: six-month, placebo controlled safety and tolerance study. *J Epilepsy*. 1995;8:201-10.
43. Ruble J, Matsuo F. Anticonvulsant - induced cutaneous reactions. *CNS Drugs*. 1999;12:215-36.
44. Marco-Del Río J, Domingo-Chiva E, Cuesta-Montero P, Valladolid-Walsh A, García-Martínez EM. Cefepime Associated With Phenytoin Induced Stevens-Johnson Syndrome. *Am J Ther*. 2017;24(4):e481-e484.
45. Beken B, Can C1, Örencik A, Can N, Yazıcıoğlu M. Oxcarbazepine-induced Stevens-Johnson syndrome: a pediatric case report. *Oxf Med Case Reports*. 2017;2017(6):omx028.
46. Mockenhaupt M. The current understanding of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2011;7(6):803-13.
47. Sachs B, Rönnau AC, von Schmiedeberg S, Ruzicka T, Gleichmann E, Schuppe HC. Lamotrigine-induced Stevens-Johnson syndrome: demonstration of specific lymphocyte reactivity in vitro. *Dermatology*. 1997;195(1):60-4.
48. Bloom R, Amber KT. Identifying the incidence of rash, Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in patients taking lamotrigine: a systematic review of 122 randomized controlled trials. *An Bras Dermatol*. 2017;92(1):139-41.

49. Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED) [Internet]. Lamal. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 03. siječnja 2017.];22 str. Dostupno na: <http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-05-02-600.pdf>
50. T. Inceçayir, I. Ağabeyoğlu. Bioavailability file: Lamotrigine. J Pharm Sci. 2006;31:163-79.
51. Moore JL, Aggarwal P. Lamotrigine use in pregnancy. Expert Opin Pharmacother. 2012;13(8):1213-6.
52. Reunanen M, Dam M, Yuen AW. A randomised open multicentre comparative trial of lamotrigine and carbamazepine as monotherapy in patients with newly diagnosed or recurrent epilepsy. Epilepsy Res. 1996;23(2):149-55.
53. Brodie MJ, Richens A, Yuen AWC. Double-blind comparison of lamotrigine and carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. Lancet 1995;345: 476-9.
54. Gillham R, Kane K, Bryant-Comstock L, Brodie MJA double-blind comparison of lamotrigine and carbamazepine in newly diagnosed epilepsy with health-related quality of life as an outcome measure. Seizure. 2000;9(6):375-9.
55. Berg AT. Identification of pharmaco-resistant epilepsy. Neurol Clin. 2009;27(4):1003-13.
56. Perucca E. Pharmacoresistance in epilepsy: how should it be defined? CNS Drugs. 1998;10:171-9.
57. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. N Engl J Med. 2000;342:314-9.



58. Jacobs MP, Fischbach GD, Davis MR, Dichter MA, Dingledine R, Lowenstein DH. Future directions for epilepsy research. *Neurology*. 2001;57(9):1536-42.
59. Chapell R, Reston J, Snyder D, Treadwell J, Treager S, Turkelson C. Management of treatment-resistant epilepsy. *Evid Rep Technol Assess*. 2003;77:1-8.
60. Langan Y, Nashef L, Sander JW. Case-control study of SUDEP. *Neurology*. 2005;64:1131-3.
61. Jacoby A, Buck D, Baker G, McNamee P, Graham-Jones S, Chadwick D. Uptake and costs of care for epilepsy: findings from a U.K. regional study. *Epilepsia* 1998; 39:776–86.
62. Schmidt D, Löscher W. Drug resistance in epilepsy: putative neurobiologic and clinical mechanisms. *Epilepsia*. 2005;46:858-77.
63. Kwan P, Sander JW. The natural history of epilepsy: an epidemiological view. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;75:1376-81.
64. Alper K. Nonepileptic seizures. *Neurol Clin (Epilepsy II: special issues)*. 1994;12:153-73.
65. Witgert ME, Wheless JW, Breier JL. Frequency of panic symptoms in psychogenic nonepileptic seizures. *Epilepsy Behav*. 2005;6:174-8.
66. Morris JC, Dodson WE, Hatlelid JM, Ferrendelli JA. Phenytoin and carbamazepine, alone and in combination: anticonvulsant and neurotoxic effects. *Neurology*. 1987;37(7):1111-8.

67. Luszczycki J, Czuczwar MK, Kis J, Krysa J, Pasztelan I, Swiader M i sur. Interactions of lamotrigine with topiramate and first generation antiepileptic drugs in the maximal electroshock test in mice: an isobolographic analysis. *Epilepsia*. 2003;44:1003-13.
68. De Sarro G, Nava F, Uguglia U, De Sarro A. Lamotrigine potentiates the antiseizure activity of some anticonvulsants in DBA/2 mice. *Neuropharmacology*. 1996;35:153-58.
69. Christensen J, Petrenaite V, Atterman J, Sidenius P, Ohman I, Tomson T i sur. Oral contraceptives induce lamotrigine metabolism: evidence from a double-blind, placebo-controlled trial. *Epilepsia*. 2007;48(3):484-9.
70. Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM. Biochemical, cellular and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1999;39:361-398.
71. Potschka H, Löscher W. In-vivo evidence for P-glycoprotein-mediated transport of phenytoin at the blood-brain barrier of rats. *Epilepsia*. 2001;42:1231-40.
72. Potschka H, Fedrowitz M, Löscher W. P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein are involved in the regulation of extracellular levels of the major antiepileptic drug carbamazepine in the brain. *Neuroreport*. 2001;12:3557-60.
73. Löscher W, Potschka H. Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;301(1):7-14.

74. Weiss J, Kerpen CJ, Lindenmaier H, Dormann SMG, Haefeli WE. Interaction of antiepileptic drugs with human P-Glycoprotein in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;307(1):262-67.
75. Basic S, Hajnsek S, Bozina N, Filipcic I, Sporis D, Mislov D i sur. The influence of C3435T polymorphism of ABCB1 gene on penetration of phenobarbital across the blood-brain barrier in patients with generalized epilepsy. *Seizure*. 2008;17(6):524-30.
76. Tischler DM, Weinberg KI, Hinton DR, Barbaro N, Annet GM, Raffel C. MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy. *Epilepsia*. 1995;35:1-6.
77. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics*. 2001;11:217-21.
78. Haerian BS, Roslan H, Raymond AA i sur. ABCB1 C3435T polymorphism and the risk of resistance to antiepileptic drugs in epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Seizure*. 2010;19(6):339-46.
79. Hipfner DR, Deeley RG, Cole SP. Structural, mechanistic and clinical aspects of MRP1. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1461:359-76.
80. Sisodiya SM, Lin WR, Squier MV, Thom M. Multidrug-resistance protein 1 in focal cortical dysplasia. *Lancet*. 2001;357:42-3.
81. Sisodiya SM. Mechanisms of antiepileptic drug resistance. *Curr Opin Neurol*. 2003;16(2):197-201.

82. Schinkel AH. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Sem Cancer Biol.* 1997;8:161-70.
83. Daly AK. Pharmacogenetics of the major polymorphic metabolizing enzymes. *Findam Clin Pharmacol.* 2003;17(1):27-41.
84. Wacher VJ, Wu CY, Benet LZ. Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol Carcinog.* 1995;13:129-34.
85. Judaš M, Kostović I. Odabirana propusnost stanične membrane i ionski kanali. *Temelji neuroznanosti.* Zagreb: MD; 1997, str. 67-75.
86. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: The structure and function of voltage - gated sodium channels. *Neuron.* 2000;26:13-25.
87. Isom LL, Ragsdale DS, De Jongh KS i sur. Structure and function of the beta-2 subunit of brain sodium channels, a transmembrane glycoprotein with a CAM-motif. *Cell.* 1995;83:433-42.
88. Rogawski MA, Loscher W. The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5:553-64.
89. Ragsdale DS, Avoli M. Sodium channels as molecular targets for antiepileptic drugs. *Brain Res Rev.* 1998;26:16-28.
90. Catterall WA, Kalume F, Oakley JC. Nav1.1. channels and epilepsy. *J Physiol.* 2010;588(Pt 11):1849-59.
91. Trimmer JS, Rhodes KJ. Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu Rev Physiol.* 2004;66:477-519.

92. Goldin AL. Resurgence of sodium channel research. *Annu Rev Physiol.* 2001;63:871-94.
93. Westernbroek RE, Merrick DK, Catteral W. Differential subcellular localization of the RI and RII Na<sup>+</sup>channel subtypes in central neurons. *Neuron.* 1989;3:695-704.
94. Westernbroek RE, Noebels JL, Catteral WA. Elevated expression of type II Na<sup>+</sup> channels in hypomyelinated axons of shiverer mouse brain. *J Neurosci.* 1992;12:2259-67.
95. Caldwell JH, Schaller KL, Lasher RS, Peles E, Levinson SR. Sodium channel Nav1.6 is localized at nodes of ranvier, dendrites and synapses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:5616-20.
96. Krzemien DM, Schaller KL, Levinson SR, Caldwell JH. Immunolocalization of sodium channel isoform NaCh6 in the nervous system. *J Comp Neurol.* 2000;420:70-83.
97. Yu FH, Catteral WA. Overview of the voltage-gated sodium channel family. *Genome Biol.* 2003;4:207.
98. Scheffer IE, Berkovic SF. The genetics of human epilepsy. *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24(8):428-33.
99. Escayg A, MacDonald BT, Meisler MH i sur. Mutations of SCN1A encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nat Genet.* 2000;24(4):343-5.
100. Meisler MH, Kearney JA. Sodium channel mutations in epilepsy and other neurological disorders. *J Clin Invest.* 2005;115:2010-17.

101. Lu Y, Wang X. Genes associated with idiopathic epilepsies: a current overview. *Neurol Res.* 2009;31(2):135-43.
102. Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P. De novo mutations in the sodium - channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *Am J Hum Genet.* 2001;68:1327-32.
103. Fujiwara T, Sugawara T, Mazaki-Miyazaki E, Takahashi Y, Fukushima K, Watanabe M i sur. Mutations of sodium channel  $\alpha$  subunit type 1 (SCN1A) in intractable childhood epilepsies with frequent generalized tonic–clonic seizures. *Brain.* 2003;126(3):531-46.
104. Sugawara T, Mazaki-Miyazaki E, Ito M, Nagafuji H, Fukuma G, Mitsudome A i sur. Nav1.1 mutations cause febrile seizures associated with afebrile partial seizures. *Neurology.* 2001;57(4):703-5.
105. Okumura A, Kurahashi H, Hirose S, Okawa N, Watanabe K. Focal epilepsy resulting from a de novo SCN1A mutation. *Neuropediatrics.* 2007;38(5):253-6.
106. Colosimo E, Gambardella A, Mantegazza M, Labate A, Rusconi R, Schiavon E i sur. Electroclinical features of a family with simple febrile seizures and temporal lobe epilepsy associated with SCN1A loss-of-function mutation. *Epilepsia.* 2007;48(9):1691-6.
107. Abou-Khalil B, Ge Q, Desai R, Ryther R, Bazyk A, Bailey R i sur. Partial and generalized epilepsy with febrile seizures plus and a novel SCN1A mutation. *Neurology.* 2001;57(12):2265-72.

108. Kumakura A, Ito M, Hata D, Oh N, Kurahashi H, Wang JW i sur. Novel de novo splice-site mutation of SCN1A in a patient with partial epilepsy with febrile seizures plus. *Brain Dev.* 2009;31(2):179-82.
109. Liao WP, Shi YW, Long YS, Zeng Y, Li T, Yu MJ. Partial epilepsy with antecedent febrile seizures and seizure aggravation by antiepileptic drugs: associated with loss of function of Na(v) 1.1. *Epilepsia.* 2010;51(9):1669-78.
110. Herrera-Peco I, Fernández-Millares V, Pastor J, Hernando-Requejo V, Sola RG, Alonso-Cerezo C. Genetics components in patients with temporal lobe epilepsy. *Rev Neurol.* 2009;49(10):541-6.
111. Holland KD, Kearney JA, Glauser TA, Buck G, Keddache M, Blankston JR i sur. Mutation of sodium channel SCN3A in a patient with cryptogenic pediatric partial epilepsy. *Neurosci Lett.* 2008;433:65-70.
112. Estacion M, Gasser A, Dib-Hajj SD, Waxmann SG. A sodium channel mutation linked to epilepsy increases ramp and persistent current of Nav1.3 and induces hyperexcitability in hippocampal neurons. *Exp Neurol.* 2010;224:362-8.
113. Pavlica M. Mrežni udžbenik iz genetike. [Internet]. Poglavlje 19. Populacijska genetika. [pristupljeno 17. rujna 2017.]. Dostupno na:<http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/pogl19.html>
114. Hedrick P. Measures of genetic variation. U: Hedrick P. *Genetics of Populations*. SAD: Jones & Bartlett Learning; 2011, str. 104.
115. Matlin AJ, Clark F, Smith CW. Understanding alternative splicing: towards a cellular code. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(5):386-98.

116. Copley RR. Evolutionary convergence of alternative splicing in ion channels. *Trends Genet* 2004;20(4):171-6.
117. Diss JK, Fraser SP, Djamgoz MB. Voltage-gated Na<sup>+</sup> channels: multiplicity of expression, plasticity, functional implications and pathophysiological aspects. *Eur Biophys J*. 2004;33(3):180-93.
118. Sarao R, Gupta SK, Auld VJ, Dunn RJ. Developmentally regulated alternative RNA splicing of rat brain sodium channel mRNAs. *Nucleic Acids Res*. 1991;19(20):5673-9.
119. Tate SK, Depondt C, Sisodiya SM, Cavalleri GL, Schorge S, Soranzo N i sur. Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the antiepileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:5507-12.
120. Heinzen EL, Yoon W, Tate SK, Sen A, Wood NW, Sisodiya SM i sur. Nova2 interacts with a cis-acting polymorphism to influence the proportions of drug-responsive splice variants of SCN1A. *Am J Hum Genet*. 2007;80(5):876-83.
121. Thompson CH, Kahlig KM, George AL Jr. SCN1A splice variants exhibit divergent sensitivity to commonly used antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 2011;52(5):1000-9.
122. Remy S, Gabriel S, Urban BW, Dietrich D, Lehmann TN, Elger CE. A novel mechanism underlying drug resistance in chronic epilepsy. *Ann Neurol* 2003;53:469-79.



123. Tate SK, Singh R, Hung CC, Tai JJ, Depondt C, Cavalleri GL i sur. A common polymorphism in the SCN1A gene associates with phenytoin serum levels at maintenance dose. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16(10):721-6.
124. Kwan P, Poon WS, Ng HK, Kang DE, Wong V, Ng PW i sur. Multidrug resistance in epilepsy and polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, and SCN3A: correlation among phenotype, genotype and mRNA expression. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(11):989-98.
125. Abe T, Seo T, Ishitsu T, Nakagawa T, Hori M, Nakagawa K. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;66(2):304-7.
126. Manna I, Gambardella A, Bianchi A, Striano P, Tozzi R, Aguglia U i sur. A functional polymorphism in the SCN1A gene does not influence antiepileptic drug responsiveness in Italian patients with focal epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52(5):e40-4.
127. Zimprich F, Stogmann E, Bonelli S, Baumgartner C, Mueller JC, Meitinger T i sur. A functional polymorphism in the SCN1A gene is not associated with carbamazepine dosages in Austrian patients with epilepsy. *Epilepsia*. 2008;49:1108-9.
128. Sánchez MB, Herranz JL, Leno C, Arteaga R, Oterino A, Valdizán EM i sur. Genetic factors associated with drug-resistance of epilepsy: relevance of stratification by patient age and aetiology of epilepsy. *Seizure*. 2010;19(2):93-101.

129. Haerian BS, Baum L, Tan HJ, Kwan P, Raymond AA, Saruwatari J. SCN1A IVS5N+5 polymorphism and response to sodium valproate: a multicenter study. *Pharmacogenomics*. 2012;13(13):1477-85.
130. Zhou BT, Zhou QH, Yin JY, Li GL, Xu XJ, Qu J i sur. Comprehensive analysis of the association of SCN1A gene polymorphisms with the retention rate of carbamazepine following monotherapy for new-onset focal seizures in the Chinese Han population. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2012;39(4):379-84.
131. Zhou BT, Zhou QH, Yin JY, Li GL, Qu J, Xu XJ i sur. Effects of SCN1A and GABA receptor genetic polymorphisms on carbamazepine tolerability and efficacy in Chinese patients with partial seizures: 2-year longitudinal clinical follow-up. *CNS Neurosci Ther*. 2012;18(7):566-72.
132. Sterjev Z, Kiteva G, Cvetkovska E, Petrov I, Kuzmanovski I, Ribarska T i sur. Influence of the SCN1A IVS5N + 5 G>A Polymorphism on Therapy with Carbamazepine for Epilepsy. *Balkan J Med Genet*. 2012;15(1):19-24.
133. Kumari R, Lakhan R, Kumar S, Garg RK, Misra UK, Kalita J i sur. SCN1A IVS5-91G>A polymorphism is associated with susceptibility to epilepsy but not with drug responsiveness. *Biochimie*. 2013;95(6):1350-3.
134. Haerian BS, Baum L, Kwan P, Tan HJ, Raymond AA, Mohamed Z. SCN1A, SCN2A and SCN3A gene polymorphisms and responsiveness to antiepileptic drugs: a multicenter cohort study and meta-analysis. *Pharmacogenomics*. 2013;14(10):1153-66.
135. Ma CL, Wu XY, Zheng J, Wu ZY, Hong Z, Zhong MK. Association of SCN1A, SCN2A and ABCC2 gene polymorphisms with the response to antiepileptic

- drugs in Chinese Han patients with epilepsy. *Pharmacogenomics*. 2014;15(10):1323-36.
136. Ma CL, Wu XY, Jiao Z, Hong Z, Wu ZY, Zhong MK. SCN1A, ABCC2 and UGT2B7 gene polymorphisms in association with individualized oxcarbazepine therapy. *Pharmacogenomics*. 2015;16(4):347-60.
137. Angelopoulou C, Veletza S, Heliopoulos I, Vadikolias K, Tripsianis G, Stathi C i sur. Association of SCN1A gene polymorphism with antiepileptic drug responsiveness in the population of Thrace, Greece. *Arch Med Sci*. 2017;13(1):138-147.
138. Krikova EV, Val'dman EA, Avakian GN, Andreev IaA, Denisov EV, Rider FK i sur. [Association study of the SCN1 gene polymorphism and effective dose of lamotrigine]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2009;109(10):57-62. Ruski.
139. Löscher W, Klotz U, Zimprich F, Schmidt D. The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia*. 2009;50(1):1-23.
140. Depondt C. The potential of pharmacogenetics in the treatment of epilepsy. *Eur J Paediatr Neurol*. 2006;10(2):57-65.
141. Delgado-Escueta AV, Bourgeois BF. Debate: Does genetic information in humans help us treat patients? PRO--genetic information in humans helps us treat patients. CON--genetic information does not help at all. *Epilepsia*. 2008;49(Suppl 9):13-24.
142. Wang Q, Sun S, Xie M, Zhao K, Li X, Zhao Z. Association between the HLA-B alleles and carbamazepine-induced SJS/TEN: A meta-analysis. *Epilepsy Res*. 2017;135:19-28.

143. Commission on Classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. 1989;30:389-99.
144. Murray MI, Halpern MT, Leppik IE. Cost of refractory epilepsy in adults in the USA. *Epilepsy Res*. 1996;23:139-48.
145. C.C. Kuo. A common anticonvulsant binding site for phenytoin, carbamazepine, and lamotrigine in neuronal Na<sup>+</sup> channels. *Mol Pharmacol*. 1998;54:712-21.
146. G.M. Lipkind, H.A. Fozzard. Molecular model of anticonvulsant drug binding to the voltage-gated sodium channel inner pore. *Mol Pharmacol*. 2010;78:631-8.

## 11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1984. godine u Zagrebu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 2003. godine, a diplomirala sam 2009. godine. Iste godine sam bila dobitnik Dekanove nagrade za najbolje studente. Nakon završenog pripravničkog staža, 2010. godine sam počela volontirati na Zavodu za neurologiju Kliničke bolnice Dubrava sve do 2012. godine kada sam započela specijalizaciju iz neurologije koju sam uspješno završila u siječnju 2018. godine. U dva navrata sam bila dobitnik stipendije Internacionalne lige protiv epilepsije (ILAE) za edukaciju održanu 2014. godine u Dubrovniku (8th Migrating Course on epilepsy) te edukaciju održanu 2015. godine u Jeruzalemu (6th Eilat International Educational Course on pharmacological treatment of epilepsy). Od 2014. godine, kao naslovni asistent pri Medicinskom fakultetu u Osijeku, sudjelujem u nastavi izbornog predmeta diplomskog studija „Prolazni poremećaj i gubitak svijesti”. Sudjelovala sam u jedanaest sponzoriranih kliničkih studija iz područja epilepsije, multiple skleroze i Alzheimerove bolesti. Koautor sam jednog, i prvi autor jednog rada objavljenog u Current Contents-u, dva rada objavljena u SCI, tri rada objavljena u ostalim časopisima, jednog poglavlja knjige iz područja neurologije, poglavlja jednog sveučilišnog udžbenika i trinaest kongresnih sažetaka od kojih su dva citirana u Current Contents-u. Sudjelovala sam na dvadesetak nacionalnih i internacionalnih neuroloških kongresa tijekom kojih sam imala više usmenih izlaganja.